

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

par

Marie-José MAGDELEINE - FABRE

1^{ère} THESE : ALCALOIDES DU BUXUS MALAYANA RIDL. -
ISOLEMENT ET DETERMINATION DES STRUCTURES.

2^{ème} THESE : PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE.

Soutenue le 10 Janvier 1969 devant la Commission d'Examen.

MM. S. DAVID
M. -M. JANOT
M. FETIZON
R. GOUTAREL

Président

Examineurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551519_0022

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

par

Marie-José MAGDELEINE

1^{ère} THESE : ALCALOIDES DU BUXUS MALAYANA RIDL. -
ISOLEMENT ET DETERMINATION DES STRUCTURES.

2^{ème} THESE : PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE.

Soutenue le Janvier 1969 devant la Commission d'Examen.

MM. S. DAVID
M.-M. JANOT
M. FETIZON
R. GOUTAREL

Président

Examineurs



A MONSIEUR SERGE DAVID

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

qui a bien voulu me faire l'honneur
de présider le jury de cette thèse

A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

A MONSIEUR MARCEL FETIZON

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

A MONSIEUR ROBERT GOUTAREL

Directeur Scientifique au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui ont accepté de juger ce travail

En hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR MAURICE - MARIE JANOT

Membre de l'Académie des Sciences

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles

du Centre National de la Recherche Scientifique

qui m'a fait l'honneur de m'accueillir
dans son laboratoire

En témoignage de ma profonde et respectueuse gratitude.

A MONSIEUR ROBERT GOUTAREL

Directeur Scientifique au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui m'a confié le sujet de cette thèse
et m'a prodigué ses conseils avec
beaucoup de bienveillance

En témoignage de profonde reconnaissance et de
respectueux attachement.

A MADAME FRANCOISE KHUONG - HUU

Chargée de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui a dirigé ce travail avec tout son
dynamisme, m'a fait bénéficier de
son expérience et de son aide constante

En témoignage de profonde reconnaissance et de sincère amitié,

A MON MARI

A MES ENFANTS

A MES PARENTS

INTRODUCTION

Depuis la détermination de la structure de la cyclobuxine D, alcaloïde principal du Buxus sempervirens, par BROWN et KUPCHAN (1), en 1962, de très nombreux travaux ont paru sur les alcaloïdes des Buxacées, ayant conduit à la description d'une soixantaine d'alcaloïdes (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

A l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S. de Gif s/Yvette, dans le service de Monsieur le Professeur JANOT, sous la direction de Monsieur R. GOUTAREL, Directeur Scientifique, trois espèces de Buxus ont été étudiées dans l'équipe de Madame F. KHUONG-HUU, Chargée de Recherche : le Buxus balearica, le Buxus Rolfei et le Buxus malayana.

L'étude des alcaloïdes du Buxus malayana m'a été confiée et fait l'objet de ce travail.

Le plan de l'exposé sera le suivant :

INTRODUCTION

I PARTIE THEORIQUE

- Historique
- Généralités sur le Buxus malayana
- Extraction des alcaloïdes du Buxus malayana
- Détermination des structures

II PARTIE EXPERIMENTALE

III CONCLUSION

Mais, je ne saurais commencer cet exposé sans remercier :

- Le Centre National de la Recherche Scientifique ;
- Monsieur N.G. BISSET à qui je dois la matière première ;
- Le Service de Spectrographie de R.M.N., et en particulier Mme L. ALAIS
- Le Service de Microanalyse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles ;
- Le Service de Spectrographie de Masse ;
- Le Service de Spectrographie Infra-rouge, Ultra-violet et Dichroïsme circulaire ;
- Le Laboratoire d'Extraction de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles et en particulier MM. A. ISCOVICI et R. BESSELIEVRE.

Je tiens également à remercier tous les membres des Laboratoires de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, en particulier mes camarades de laboratoire : Mmes C. CONREUR, D. HERLEM, A. MILLIET Mlles M. TASSEL et M. PAÏS, qui m'ont aidée à des titres divers.

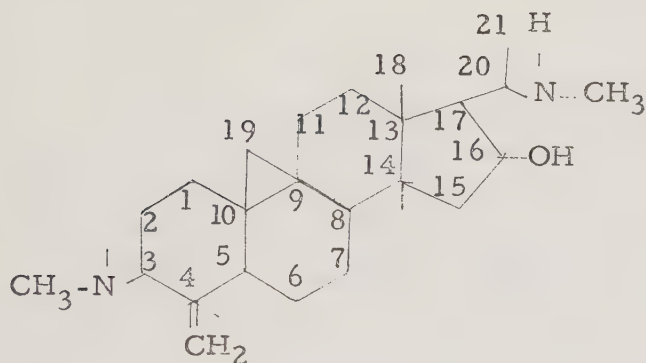
x

x

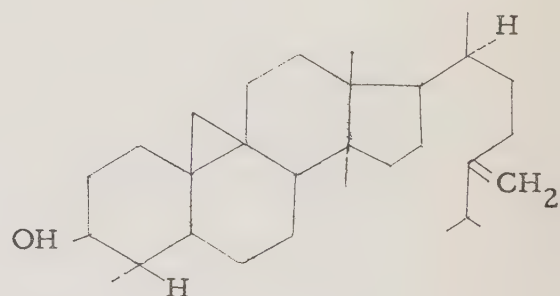
x

NOMENCLATURE

BROWN et KUPCHAN (1) ont établi la structure de la cyclobuxine D et fixé sa stéréochimie par corrélation avec le cycloeucalénol :



Cyclobuxine D, 1



Cycloeucalénol

Les alcaloïdes des Buxacées appartiennent aux groupes des alcaloïdes stéroïdiques et les chercheurs présents au Symposium de Kyoto, en Avril 1964, ont proposé la nomenclature suivante :

Pour les alcaloïdes diaminés-3,20, appartenant aux dérivés des cyclo-9 β , 19 méthyl prégnanes, on désigne par les lettres A, B, C, D, E, F, G, H, I, le degré de substitution par des hydrogènes ou des méthyles, des azotes en position 3 et en position 20 ; le dérivé le plus substitué, bisdiméthylamino-3,20 étant désigné par la lettre A.

On conserve la même nomenclature pour les dérivés du type abeo-9 (10 $\rightarrow$ 19) triméthyl-4,4',14 α prégnane-5 α .

GENERALITE BOTANIQUE

Le Buxus malayana Rild est un petit arbre pouvant atteindre cinq mètres de haut, faisant partie de la flore particulière aux montagnes calcaires du Perak et du Salangor en Malaisie. L'échantillon que nous avons étudié nous a été rapporté d'une mission faite, en 1964, par N.G. BISSET en Malaisie et Bornéo du Nord (KEP 98755, coll. K.M. KOCHUMMEN et N.G. BISSET 29/7/64, Bukittakum, Kanching, Salangor).

Mlle MATHOU (2) le mentionne dans sa thèse sur les Buxacées, et le classe dans la sous-section des Sessiflorae de la section Eubuxus. Dans sa révision des espèces asiatiques des Buxus, HATUSIMA (3) le range dans sa section Eubuxus dans un groupe de huit espèces trouvées en Malaisie, Indochine, Formose et Japon.

EXTRACTION DU BUXUS MALAYANA

Cette extraction a été faite au moyen de la méthode de ROSTOCK et SEEBECK (4).

Les feuilles d'une part, les écorces, tiges et rameaux d'autre part, séchés et finement broyés, sont épuisés par agitation à température ambiante par un mélange de solvants. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est repris par de l'éther, agité avec une solution d'acide amido-sulfonique, les alcaloïdes, sous forme de sulfamates étant solubles dans l'eau.

Après alcalinisation de la phase aqueuse, les alcaloïdes sont extraits par du chlorure de méthylène. Le résidu d'alcaloïdes totaux obtenu par évaporation du solvant est séparé en 2 lots (bases A et bases B) par partage entre un tampon à pH 5 et du chlorure de méthylène.

Par chromatographies successives sur alumine d'activités croissantes, 8 alcaloïdes ont été obtenus :

- | | |
|---|--|
| <u>Bases A extraites des feuilles :</u> | - la cycloprotobuxine C |
| | - la cycloprotobuxine A |
| | - la cyclovirobuxine D |
| <u>Bases B extraites des feuilles :</u> | - la cyclovirobuxéine B |
| | - la cyclovirobuxéine A |
| | - la cyclomalayanine |
| <u>Bases A extraites des écorces :</u> | - l'ester vanillique de la cyclovirobuxine D |
| <u>Bases B extraites des écorces :</u> | - la cyclobuxophyllinine |

Cependant, certaines fractions de chromatographie, bien que cristallisées, présentaient plusieurs taches à l'analyse chromatographique sur couche mince (CCM); la résolution de ce mélange a pu être réalisée par distribution à contre-courant entre un tampon et une phase organique non miscible.

2 alcaloïdes ont été obtenus par cette méthode :

- la cyclovirobuxine C
- la N-formylcyclovirobuxéine D

Donc 10 alcaloïdes, dont 6 nouveaux, ont été extraits du Buxus malayana. La détermination de leur structure sera exposée.

ALCALOIDES EXTRAITS DU BUXUSMALAYANA

Nom	Formule brute	Localisation	α D	F	
Cycloprotobuxine C	$C_{27}H_{48}N_2$	Feuilles	+ 78	212	Base A
Cycloprotobuxine A	$C_{28}H_{50}N_2$	"	+ 53	204	Base A
Cyclovirobuxine C	$C_{26}H_{46}ON_2$	"	+ 63	220	Base A
Cyclovirobuxine D	$C_{27}H_{48}ON_2$	"	+ 65	201	Base A
Cyclovirobuxéine B	$C_{27}H_{46}ON_2$	"	- 75	203	Base B
Cyclovirobuxéine A	$C_{28}H_{48}ON_2$	"	- 87	220	Base B
Cyclomalayanine	$C_{36}H_{52}O_3N_2$	"	- 61	170	Base B
N-formylcyclovirobuxéine B	$C_{28}H_{46}O_2N_2$	"	-157	290	Base B
Ester vanillique de cyclovirobuxine D	$C_{34}H_{52}O_4N_2$	Ecorces	0 ± 2	210	Base A
Cyclobuxophyllinine F	$C_{25}H_{39}NO$	"	- 69	167	Base B

x

x x

DETERMINATION DES STRUCTURES DES ALCALOÏDES DU BUXUS MALAYANA

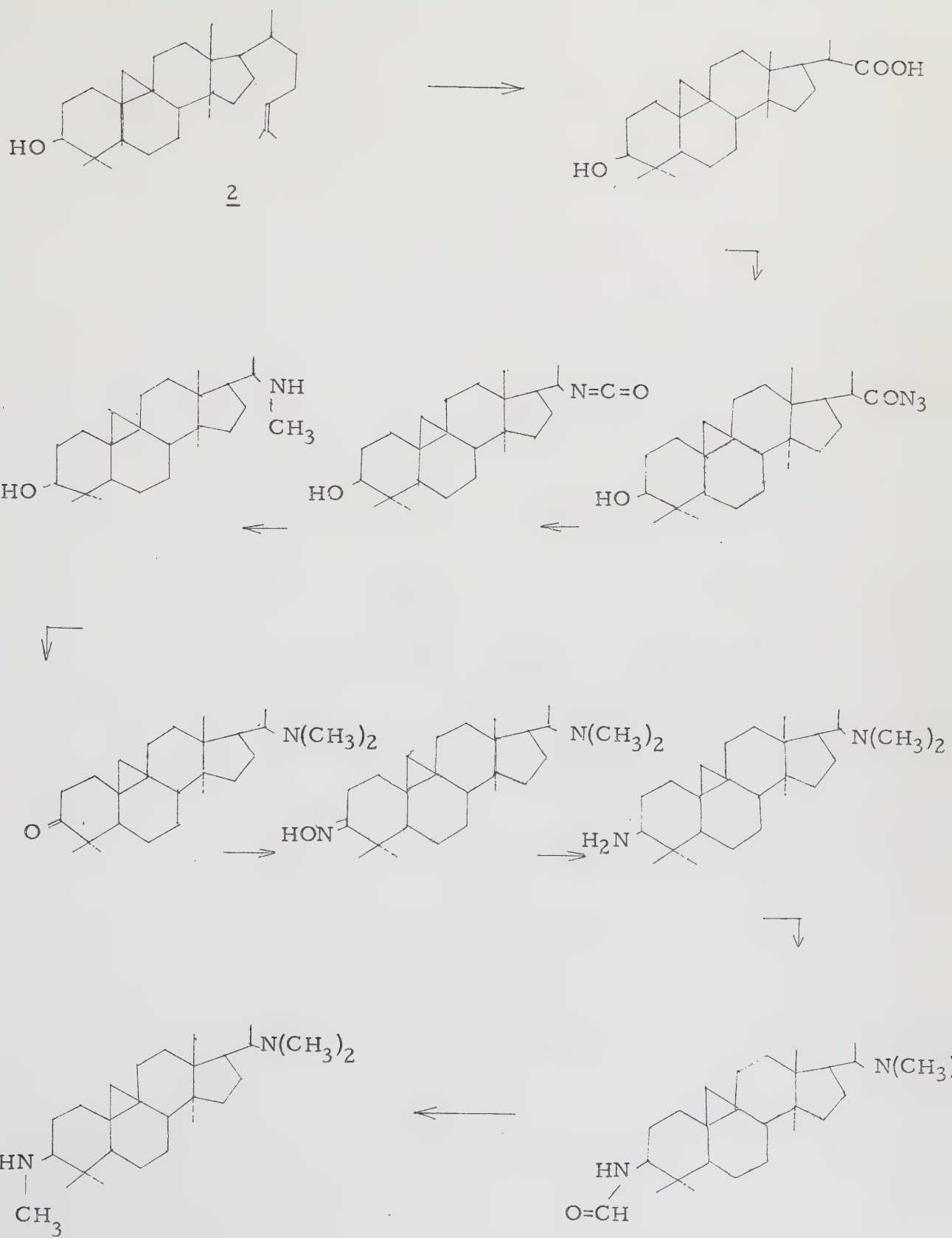
CYCLOPROTOBUXINE C, 1

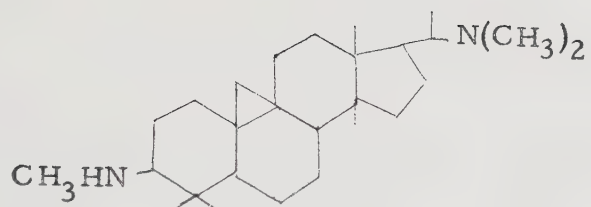
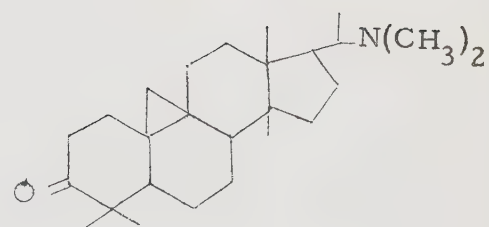
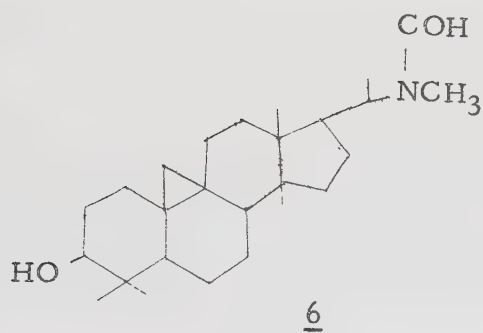
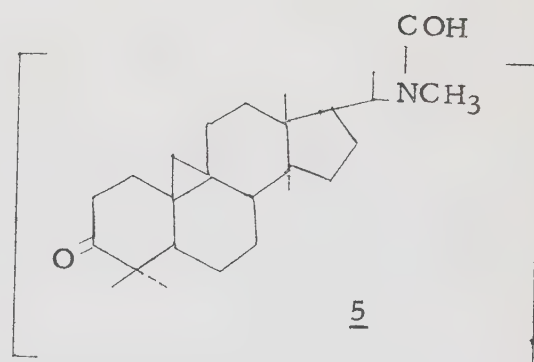
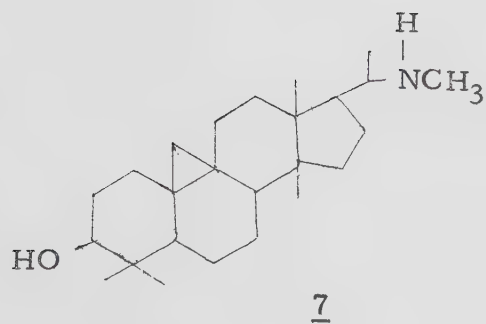
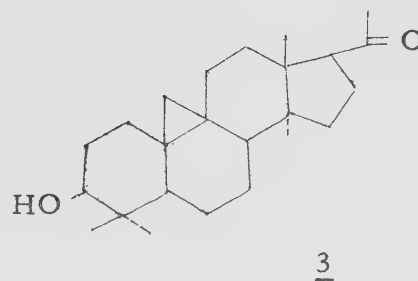
La cycloprotobuxine C, 1, ou méthylamino-3 β diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , a été isolée par cristallisation dans l'acétone des fractions benzéniques de la chromatographie des bases **A des feuilles du Buxus malayana**. Isolée également des feuilles du Buxus balearica, elle est identique à l'alcaloïde L de SCHLITTLER (5). Sa structure et sa stéréochimie ont été démontrées par ARIGONI et CALAME (6) par synthèse partielle à partir du cycloarténol, 2.

Dans le but d'effectuer, ultérieurement, la synthèse partielle du cycloarténol, 2, à partir de la cycloprotobuxine C, 1, nous avons préparé le dérivé hydroxy-3 β cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α one-20, 3.

Par désamination oxydante selon RUSCHIG (7), on obtient la cétone 4. L'oxydation chromique, en présence de pyridine, selon une technique mise au point par Adrien CAVE (10), conduit au dérivé N-formylé, 5, qui est réduit par le borohydrure de sodium en milieu alcoolique en hydroxy-3 β N-méthylformamido-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , 6, F = 208°, $[\alpha]_D^{25} + 9,5^\circ$. Le spectre I.R. de ce produit présente les bandes caractéristiques d'une fonction amide à 1655cm⁻¹ et d'une fonction alcool à 3400cm⁻¹.

Le spectre de R.M.N. montre les signaux d'un méthylène cyclopropanique, de 4 méthyles tertiaires, d'un méthyle secondaire à 1,01ppm, d'un groupe N(CH₃)COR, de l'hydrogène du groupe N(CH₃)COH à 8,1ppm et d'un proton en α d'une fonction alcool secondaire.



Cycloprotobuxine C, 146573

L'hydrogénolyse de la fonction amide par le lithium dans l'éthylamine conduit à l'hydroxy-3 β méthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , 7 ; F = 155°, $[\alpha]_D + 45^\circ$.

La désamination oxydante selon RUSCHIG (7) conduit à l'hydroxy-3 β cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α one-20, 3 ; F = 217°, $[\alpha]_D + 107^\circ$.

Le spectre I.R. présente les bandes d'absorption d'un carbonyle à 1700cm⁻¹ et d'un hydroxyle à 3500cm⁻¹.

Le spectrogramme de masse confirme le poids moléculaire.

Le spectre de R.M.N. montre les signaux d'un CH₂ cyclopropanique de 4 singulets de méthyles tertiaires, d'un singulet du COCH₃ à 2,10ppm et d'un multiplet du proton en α de la fonction alcool en 3.

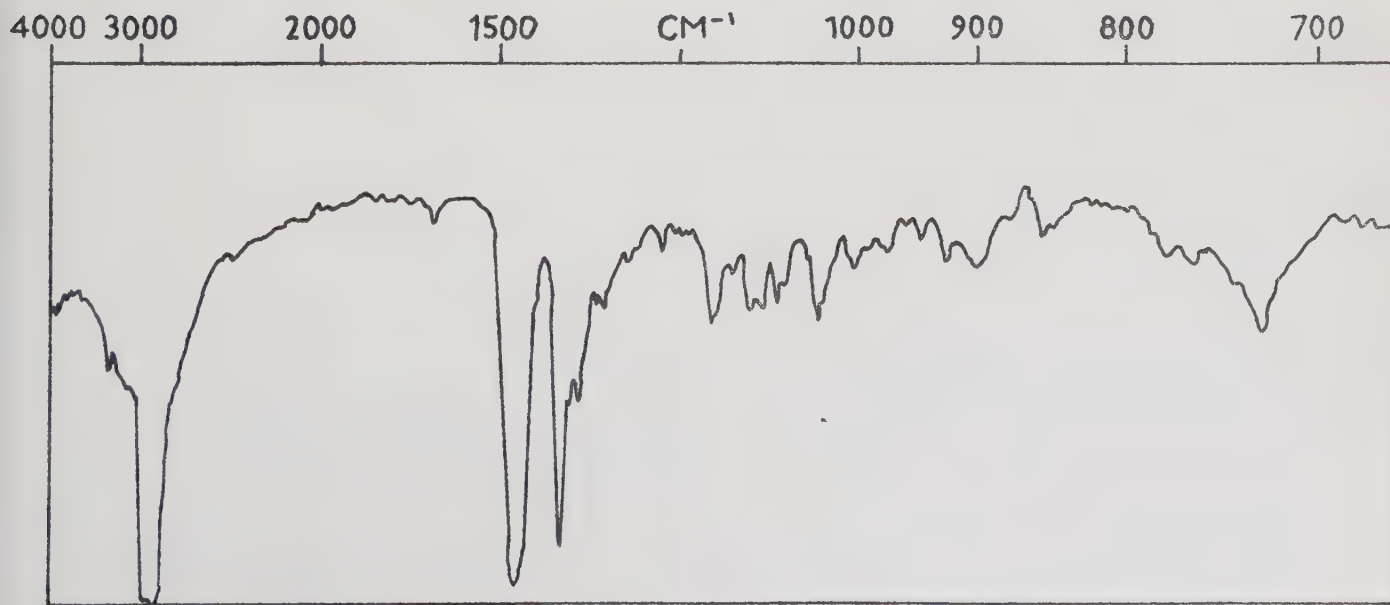
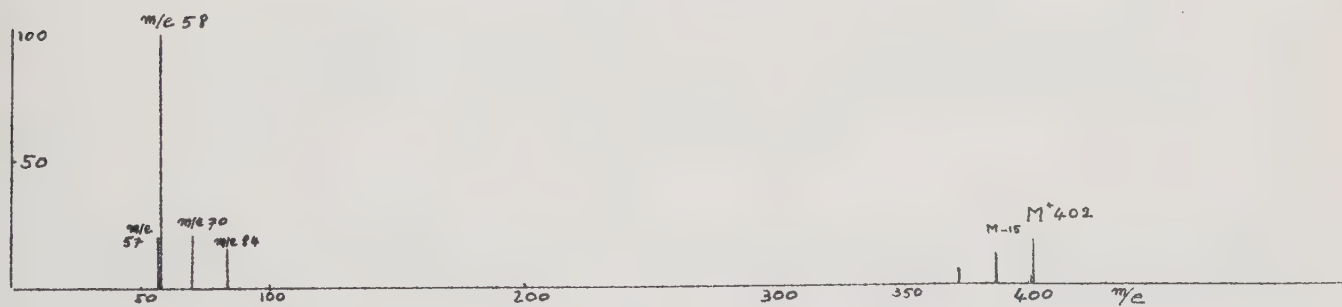
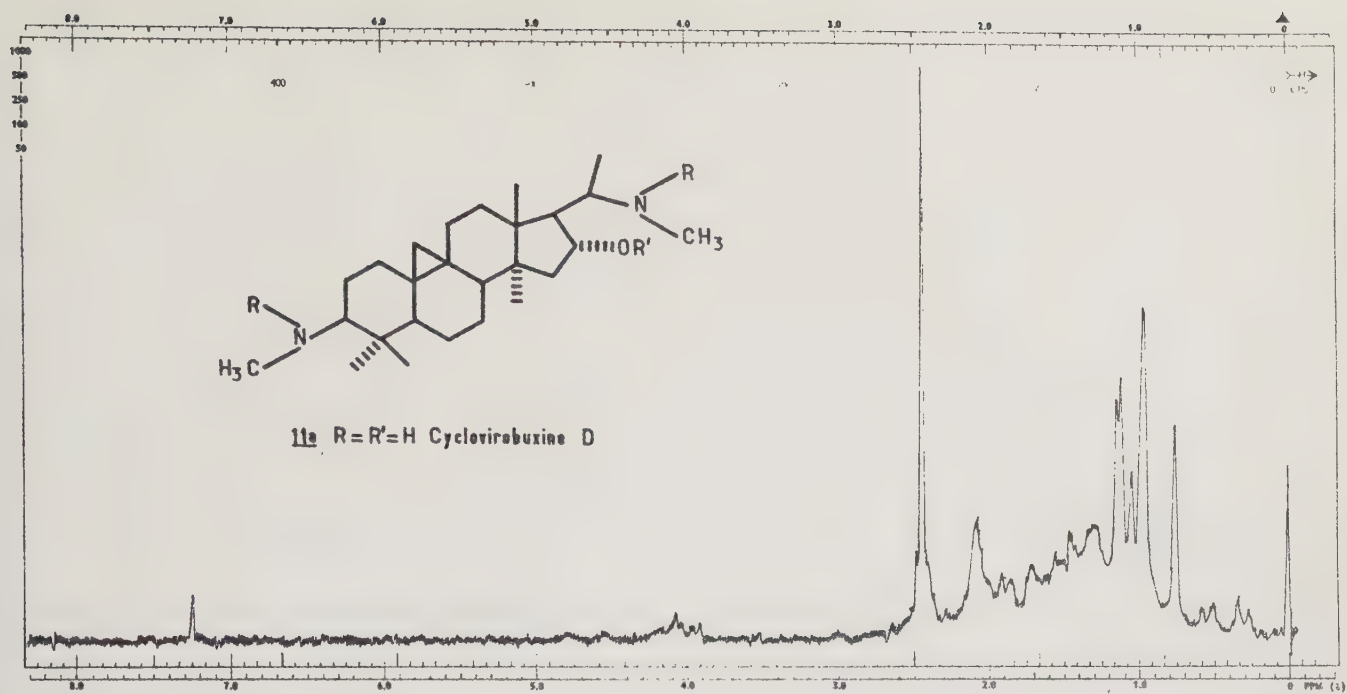
CYCLOPROTOBUXINE A

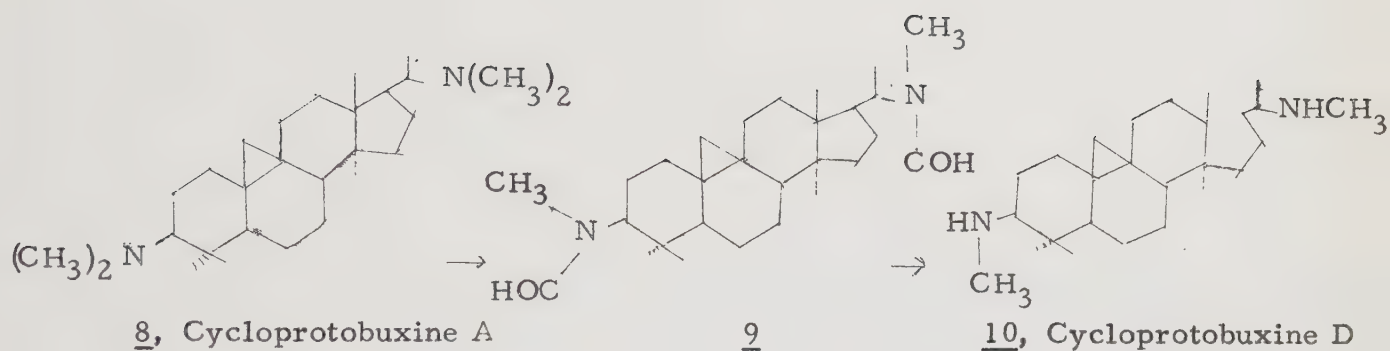
La cycloprotobuxine A, 8, ou bisdiméthylamino-3 β , 20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , a été isolée par cristallisation des fractions benzéniques de la chromatographie des bases A du Buxus malayana. Elle avait été précédemment isolée des feuilles du Buxus balearica (8).

La méthylation selon ESCHWEILER-CLARKE (a) de la cycloprotobuxine C, 1, conduit à la cycloprotobuxine A, 8.

L'oxydation chromique dans la pyridine à chaud de la cycloprotobuxine A conduit au dérivé diformylé-3, 20, 9, par oxydation des méthyles attachés à l'azote selon la méthode mise au point par Ad. CAVE (10). L'hydrogénolyse des fonctions amides par le lithium dans l'éthylamine conduit à la cycloprotobuxine D, 10.

PLANCHE 1





CYCLOVIROBUXINE D

La cyclovirobuxine D, 11a, ou bisméthylamino-3 β , 20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α ol-16 α , répond à la formule brute $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{ON}_2$. Elle a été obtenue par cristallisation dans l'acétone de certaines fractions benzéniques de la chromatographie des bases A extraites des feuilles du Buxus malayana.

L'étude de son spectre de R. M. N. indique la présence d'un CH_2 cyclopropanique, de 4 singulets de méthyles tertiaires, d'un méthyle secondaire, de 2 groupes NCH_3 , d'un hydrogène en α d'une fonction alcool secondaire.

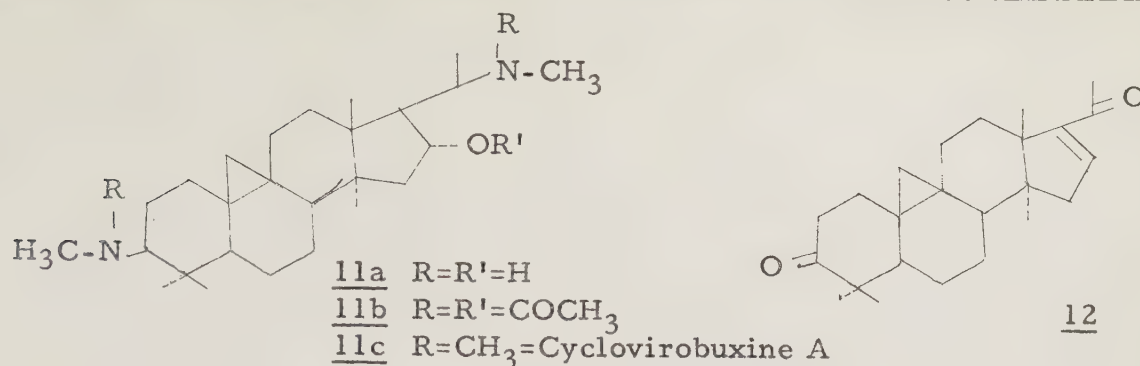
Le spectre de masse confirme le poids moléculaire ($M^+ = 402$) et présente des pics à m/e 57 et 70 (NHCH_3 en 3) et m/e 58 (NHCH_3 en 20).

L'acétylation pyridinée donne un dérivé O, N, N'-triacétylé, 11b.

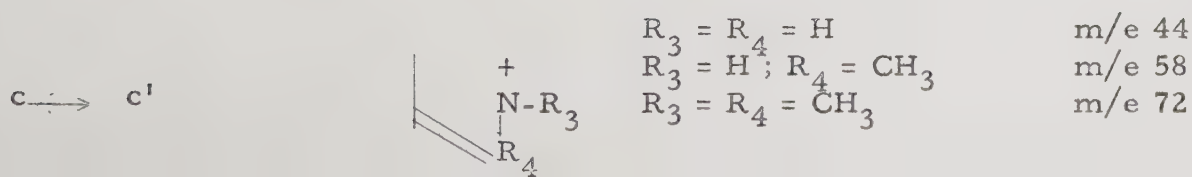
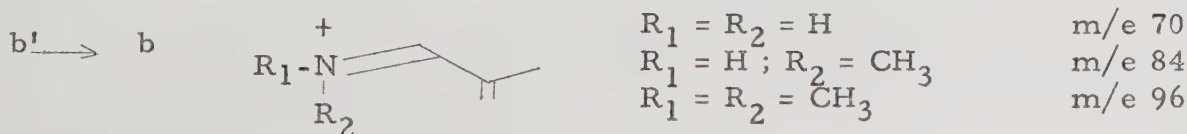
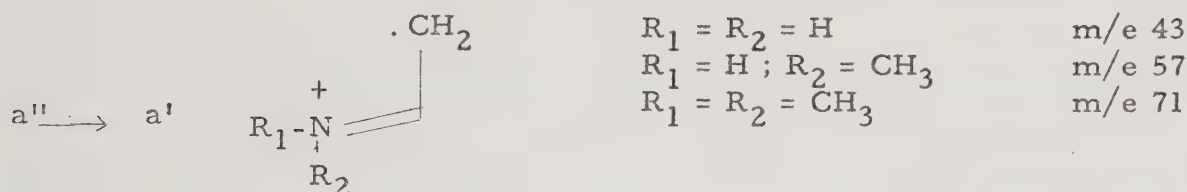
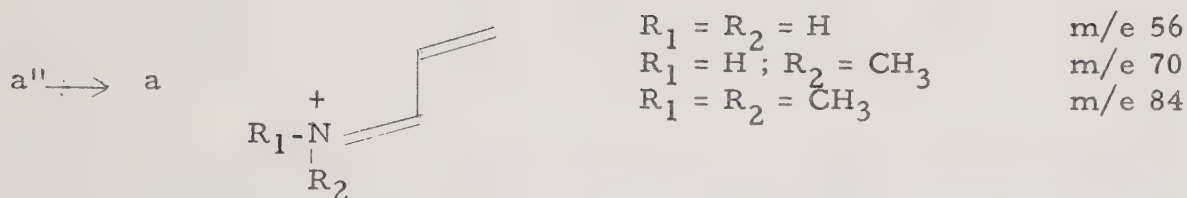
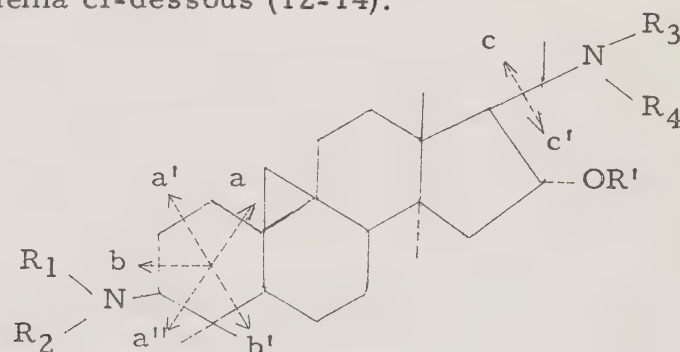
La méthylation selon ESCHWEILER-CLARKE (9) donne la cyclovirobuxine A, 11c.

La désamination oxydante selon RUSCHIG (7) conduit à la dicétone 12, par deshydratation du cétole intermédiaire et dont le spectre I. R. montre l'absorption d'un carbonyle cétonique conjugué à 1651cm^{-1} et d'un carbonyle cétonique à 1700cm^{-1} .

Ces résultats ont confirmé l'identité de cet alcaloïde avec la cyclovirobuxine D, extraite par KUPCHAN (11) des feuilles du Buxus sempervirens.



Les coupures observées dans les spectrogrammes de masse des dérivés diamminés en 3 et en 20 dans la série du cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane 5 α sont résumées dans le schéma ci-dessous (12-14).



CYCLOVIROBUXINE C

La cyclovirobuxine C, 13, ou méthylamino-3 β diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4,4', 14 α prégnane-5 α , a été obtenue par distribution à contre-courant entre un tampon à pH 5 et du chlorure de méthylène, puis entre un tampon à pH 6,4 et du chlorure de méthylène de certaines fractions benzéniques de la chromatographie des bases B du Buxus malayana. Le produit obtenu est constitué, ainsi que le montre son spectre de R. M. N., par un mélange de cyclovirobuxine C, 13, et de cyclovirobuxéine C. Dans l'impossibilité d'obtenir pure la cyclovirobuxine C, nous avons soumis le mélange à une hydrogénation catalytique.

La cyclovirobuxine C, 13, $F = 201^\circ$, $[\alpha]_D + 65^\circ$, de formule brute $C_{27}H_{48}ON_2$, a été obtenue par cristallisation dans l'acétone.

Son spectre de masse confirme le poids moléculaire, $M^+ = 416$, et présente des pics à m/e 57 et 70, caractéristiques d'un groupe méthylamino en position 3 et un pic à m/e 72 caractéristique d'un groupe diméthylamino en position 20.

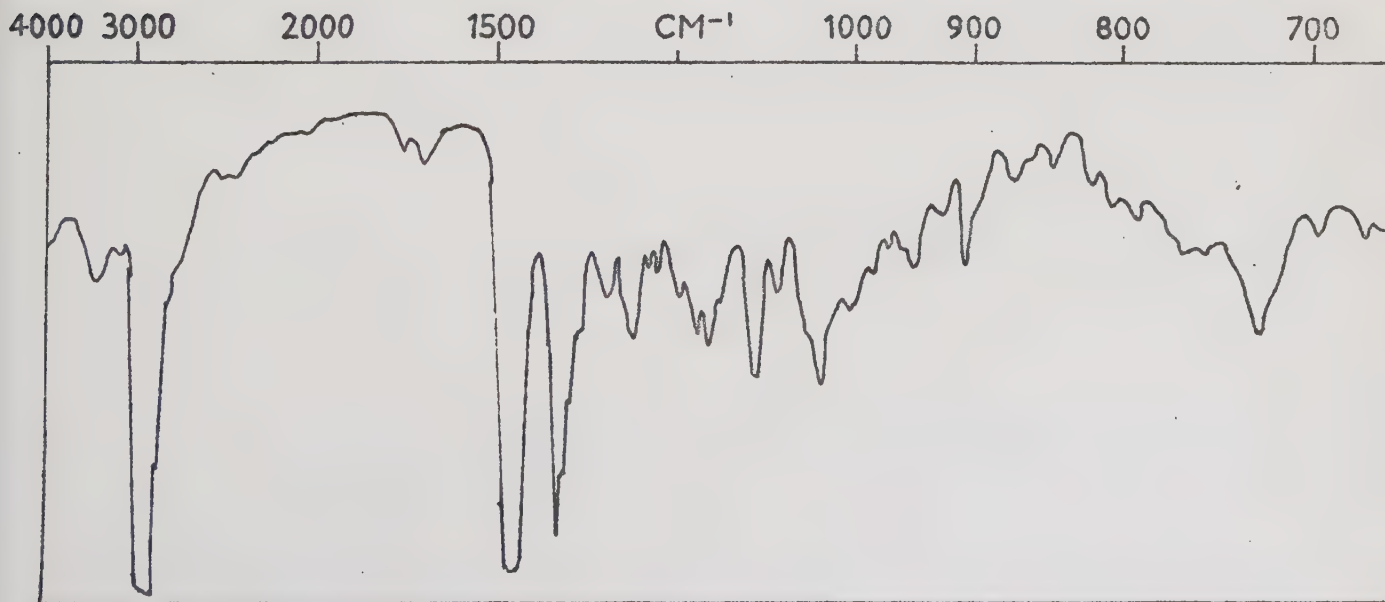
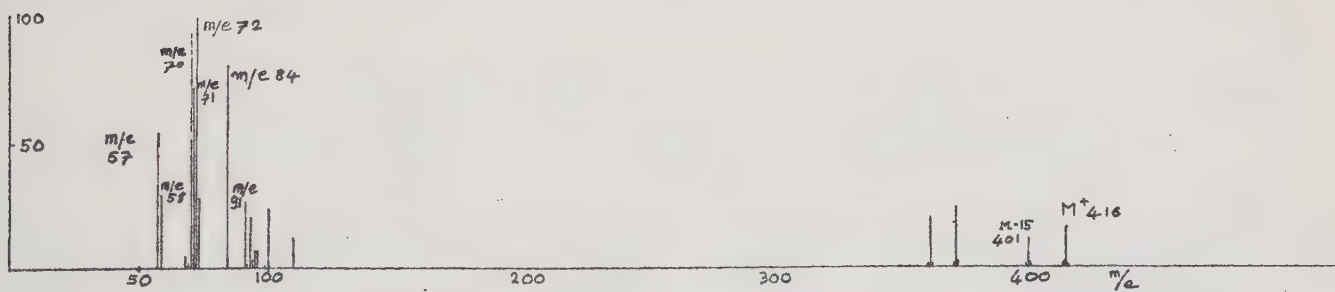
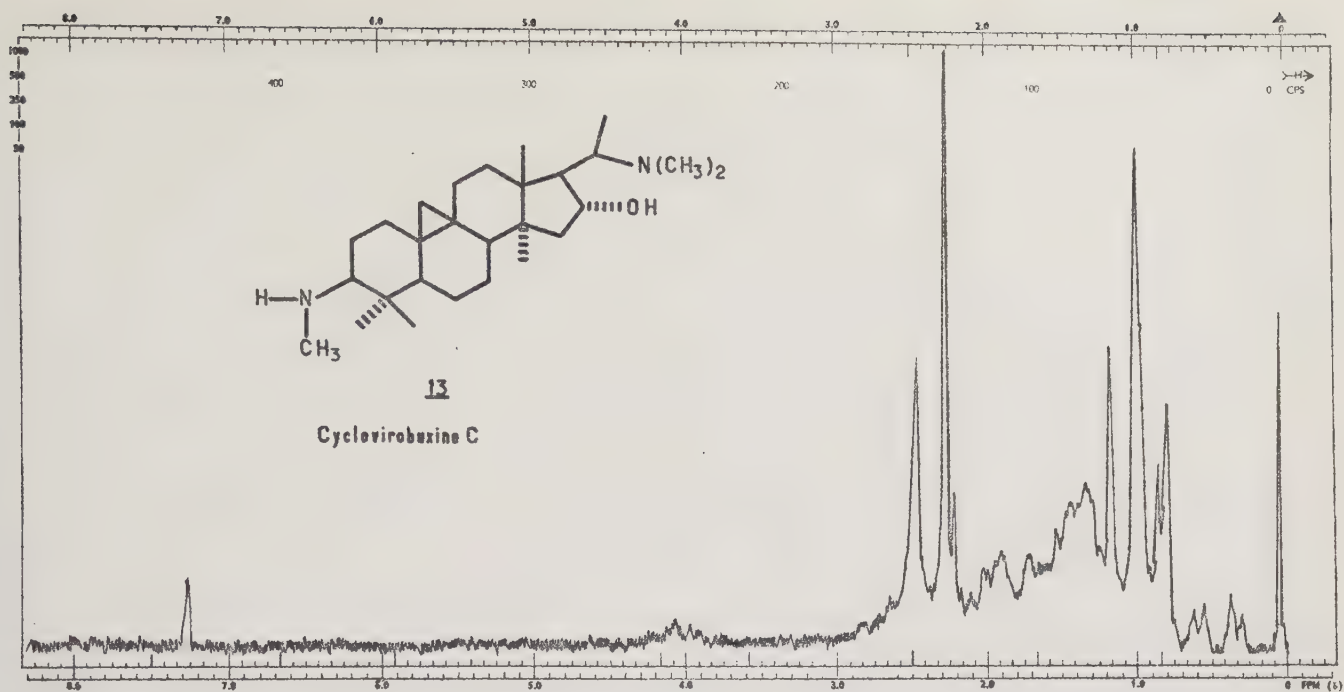
Son spectre de R. M. N. indique la présence d'un CH_2 cyclopropanique, de 4 méthyles tertiaires, d'un méthyle secondaire, d'un groupe diméthylamino, d'un groupe NCH_3 , d'un hydrogène en α d'une fonction alcool secondaire. La position du doublet du méthyle secondaire correspondant au méthyle 21 à 0,86ppm est compatible avec la présence de la fonction diméthylamino en 20 α (12).

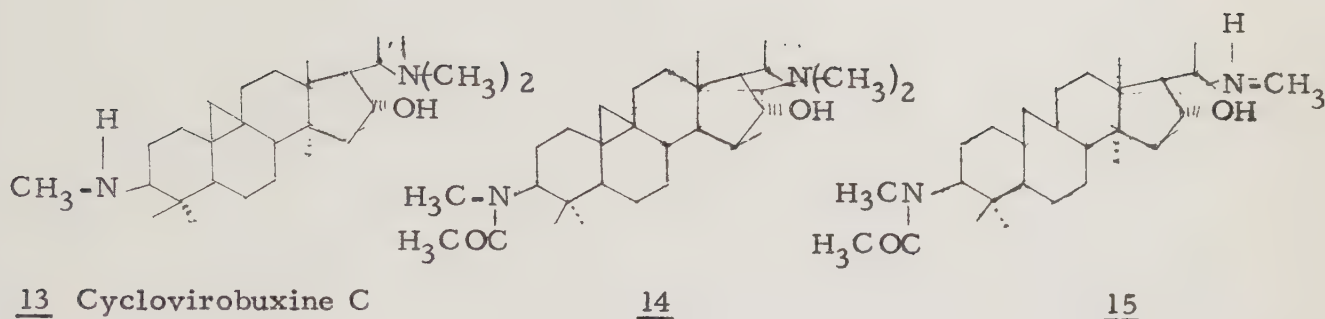
Par acétylation par du chlorure d'acétyle en présence de carbonate de potassium (11), on obtient la N-acétylcyclovirobuxine C, 14, caractérisée par la présence, dans son spectre I. R., d'une bande amide à $1600cm^{-1}$.

Une corrélation est établie entre la cyclovirobuxine D et la cyclovirobuxine C :

La désacétylation par chauffage dans de la potasse éthanolique de la O, N, N' triacétylcyclovirobuxine D, 11b (13), conduit à la N-3 mono-acétylcyclovirobuxine D, 15, laquelle, par méthylation, conduit à la N-acétylcyclovirobuxine C, 14.

PLANCHE 2





CYCLOVIROBUXEINE A

Le nom de cyclovirobuxéine a été proposé par ARIGONI et CALAME pour un type d'alcaloïdes ne différant des cyclovirobuxines que par la présence d'une double liaison en 6-7 (14).

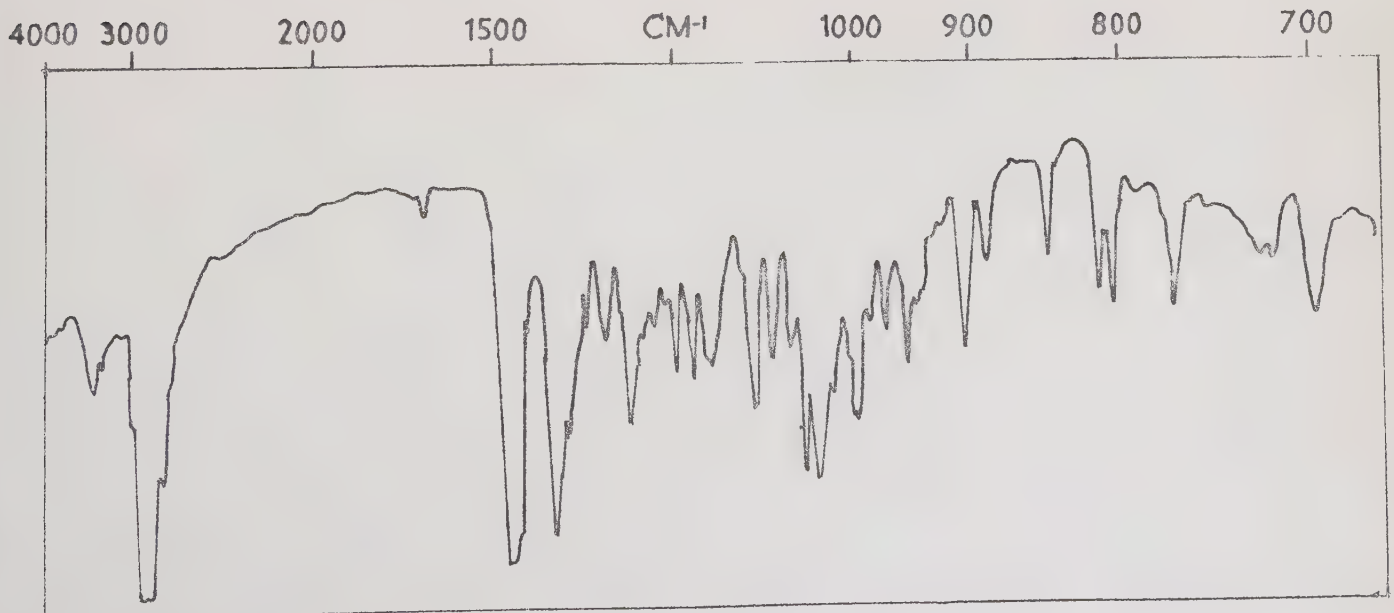
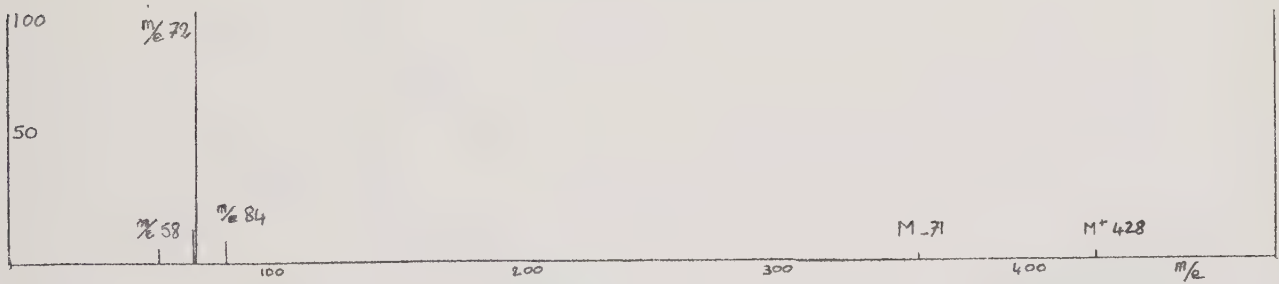
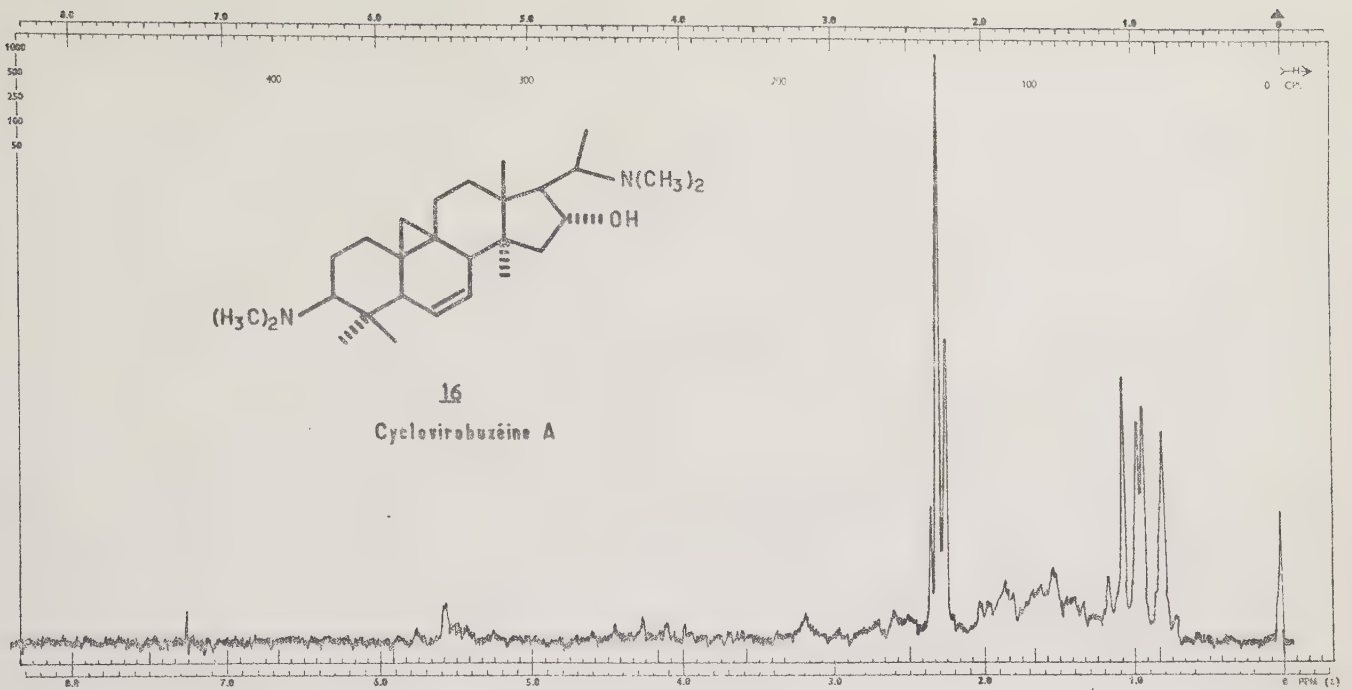
La cyclovirobuxéine A, 16, $F = 220^\circ$, $[\alpha]_D - 87^\circ$, a été obtenue par cristallisation dans l'acétone des fractions benzéniques de la chromatographie des bases B des feuilles du Buxus malayana (*).

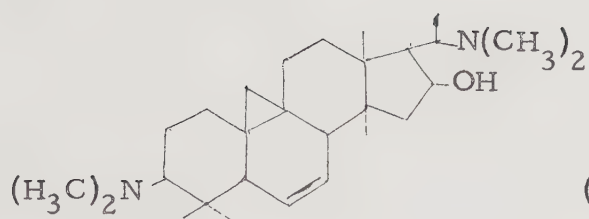
Son spectre de R. M. N. montre la présence d'un CH_2 cyclopropanique à $-0,21$ et $+0,73\text{ppm}$, déplacé par rapport aux signaux du CH_2 cyclopropanique observé dans les spectres de R. M. N. des cyclovirobuxines ($+0,25$ et $+0,50\text{ppm}$). Un déplacement identique est observé dans le spectre de R. M. N. des cyclomicrophyllines (12), alcaloïdes possédant une double liaison en 6-7. Les signaux de 2 protons éthyléniques sont également observés. On remarque, en outre, 4 méthyles tertiaires et un méthyle secondaire, et le signal d'un hydrogène en α d'une fonction alcool secondaire.

Le spectre de masse indique le poids moléculaire $M^+ = 428$ et présente les pics à m/e 58, 71 et 84 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en position 3 et m/e 72 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 20).

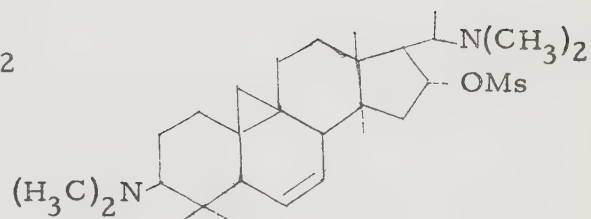
* - DOPKE et coll. l'ont aussi trouvé en faible quantité dans le Buxus sempervirens (15).

PLANCHE 3

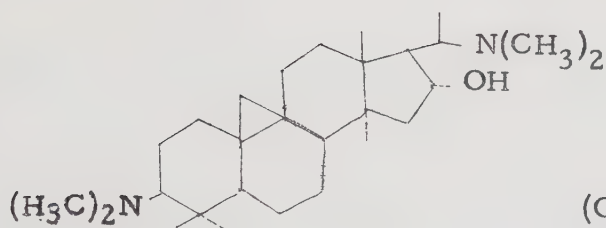




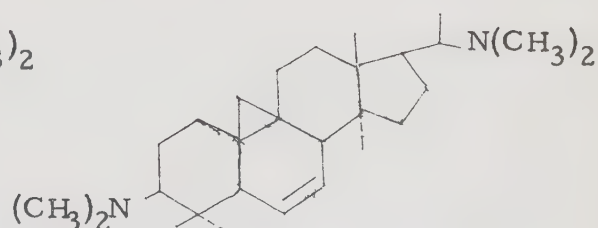
16 Cyclovirobuxéine A



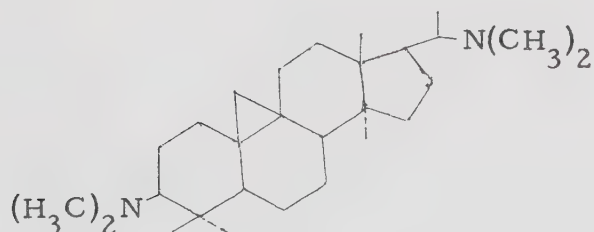
17



11 Cyclovirobuxine A



18 Cycloprotobuxéine A



8 Cycloprotobuxine A

L'hydrogénation catalytique conduit à la cyclovirobuxine A, 11c. La différence de rotation moléculaire (- 535), calculée entre la cyclovirobuxéine A et la cyclovirobuxine A est compatible avec la présence d'une double liaison en 6-7.

La cyclovirobuxéine A, traitée par le chlorure de l'acide méthane-sulfonique, conduit au dérivé O-mésylé, 17, lequel, réduit par l'hydrure d'aluminium-lithium dans le dioxanne, conduit à la cycloprotobuxéine A, 18, non encore connue, hydrogénable en cycloprotobuxine A, 8.

La cyclovirobuxine A, 11c, traitée de la même façon, conduit à la cycloprotobuxine A, 8.

Ces réactions confirment la stéréochimie 3β et 20α des deux groupements aminés.

CYCLOVIROBUXEINE B

La cyclovirobuxéine B, 19a, de formule brute $C_{27}H_{46}ON_2$, a été obtenue par cristallisation dans l'acétone des fractions benzène-éther de la chromatographie des bases B des feuilles du Buxus malayana.

Son spectre de R. M. N. montre les signaux d'un CH_2 cyclopropanique à - 0,23 et + 0,72ppm indiquant la présence d'une double liaison disubstituée en 6-7. On observe également les signaux de deux protons éthyléniques, les signaux de 4 méthyles tertiaires, un méthyle secondaire à 1,08ppm, indiquant la présence d'un groupe méthylamino en 20 (12), d'un groupement $N(CH_3)_2$, d'un groupement méthylamino et d'un hydrogène en α d'une fonction alcool secondaire.

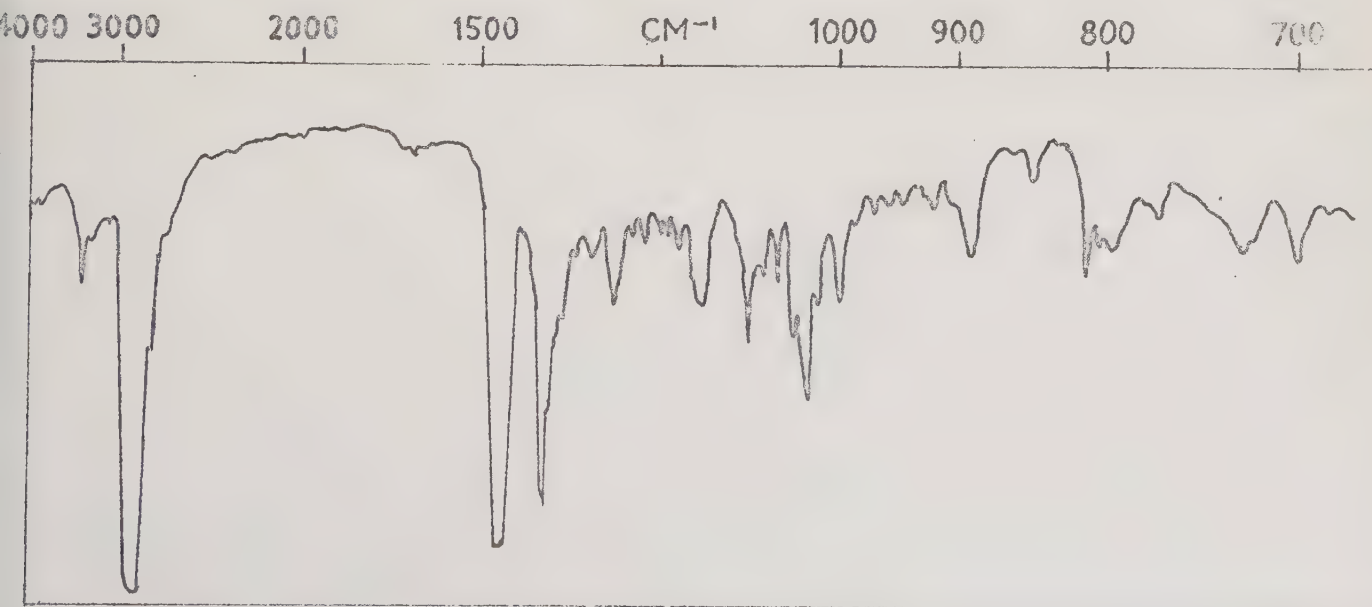
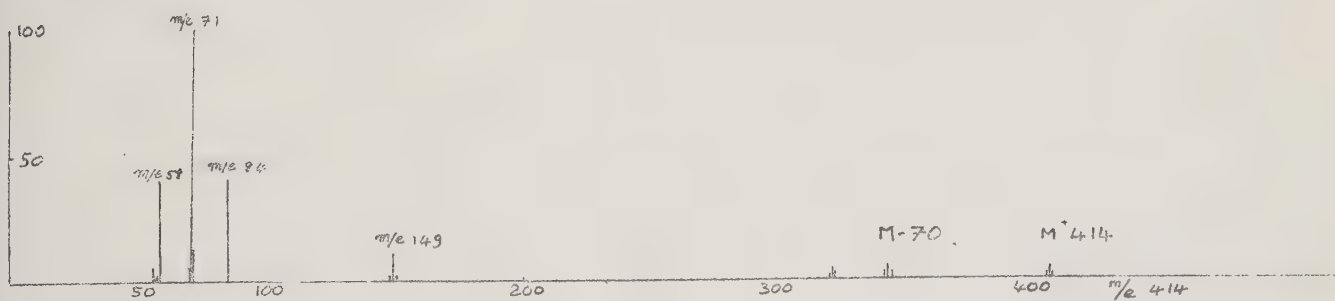
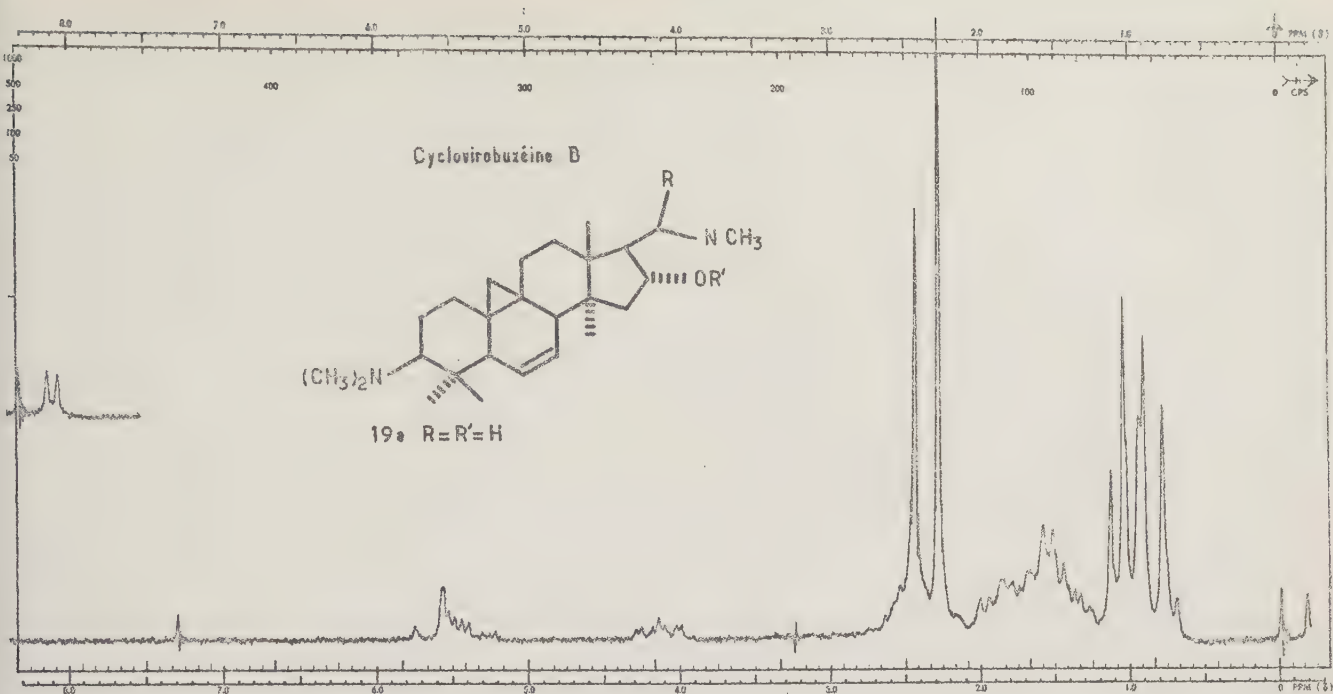
Le spectre de masse indique des pics à m/e 58, 71 et 84 (groupe-ment diméthylamino en 3) et à m/e 58 (groupement méthylamino en 20), ainsi que le poids moléculaire $M^+ = 414$.

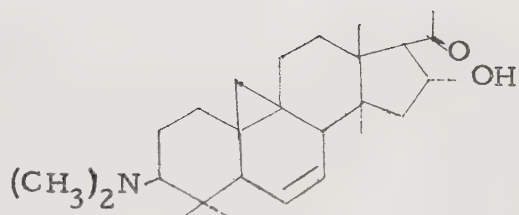
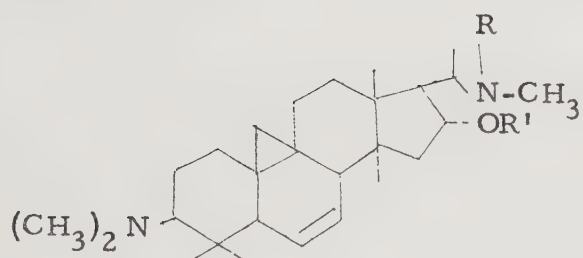
L'acétylation pyridinée donne un dérivé O, N-diacétylé, 19b.

La méthylation selon ESCHWEILER-CLARKE (9) conduit au dérivé bisdiméthylamino- $3\beta, 20\alpha$ ou cyclovirobuxéine A, 16, ce qui démontre la stéréochimie des fonctions aminées.

L'hydrogénation catalytique de la cyclovirobuxéine B conduit à la cyclovirobuxine B, 20. La différence de rotation moléculaire calculée entre ces deux dérivés (- 526) est en faveur de la position 6-7 de la double liaison disubstituée.

PLANCHE 4



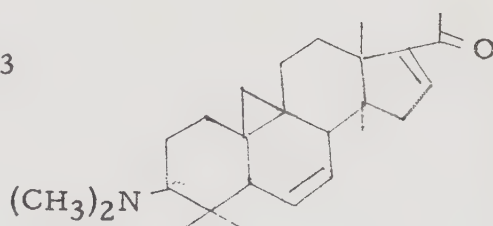
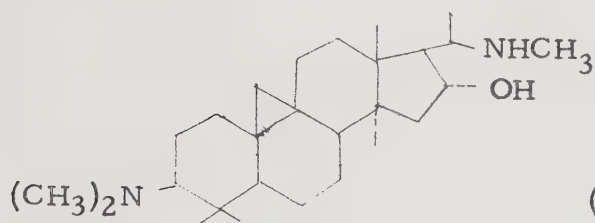


19 Cyclovirobuxéine B $\text{R} = \text{R}' = \text{H}$

22

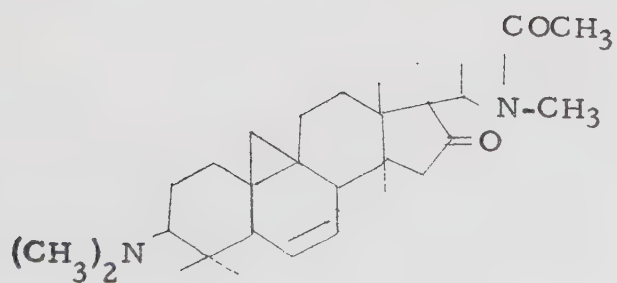
19b $\text{R} = \text{R}' = \text{COCH}_3$

19c $\text{R} = \text{COCH}_3$; $\text{R}' = \text{H}$



20

21



23

Par désamination oxydante selon RUSCHIG (7), on obtient la cétone conjuguée 21 et le cétole 22. L'obtention de la cétone conjuguée 21 par deshydratation du cétole 22, caractérisée par son spectre I.R. ($\text{C}=\text{O}$ conjugué à 1670cm^{-1}), son spectre U.V. (λ_{max} 243 nm) et son spectre de R.M.N. (présence d'un hydrogène oléfinique conjugué à 5,5 ppm), confirme le voisinage de l'amine secondaire et de l'alcool secondaire.

L'acétylation à froid par le chlorure d'acétyle (12) en présence de carbonate de potassium donne la N-monoacétylcyclovirobuxéine, 19c, qui est oxydée en oxo-16 monoacétylcyclovirobuxéine B, 23. La différence de rotation moléculaire entre 19c et 23 (- 503) est compatible avec la présence d'une fonction alcool en 16 α . Le spectre I.R. présente une bande cétonique à 1650cm^{-1} et une bande amide caractéristique à 1660cm^{-1} .

Ceci confirme l'identification de la cyclovirobuxéine au dérivé méthylamino-20 α diméthylamino-3 β cyclo-9 β , 19 triméthyl-4,4', 14 α prégnane-5 α ène-6 ol-16 α .

CYCLOMALAYANINE

La cyclomalayanine, 24, $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{N}_2$, est l'ester p-coumarique de la cyclovirobuxéine B, 19a, $F = 170^\circ$, $[\alpha]_D - 61^\circ$.

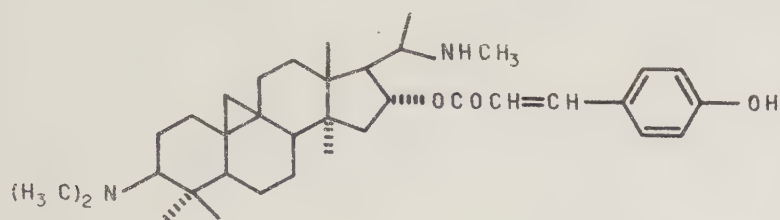
Elle a été isolée par cristallisation dans de l'acétate d'éthyle des fractions éther et éther-éthanol de la chromatographie des bases B des feuilles du Buxus malayana.

Le spectre I.R. présente à 1710, 1760 et 1150cm^{-1} les bandes d'absorption d'un groupe ester conjugué.

Le spectre U.V. présente un maximum d'absorption à 277 nm, d'un acide coumarique.

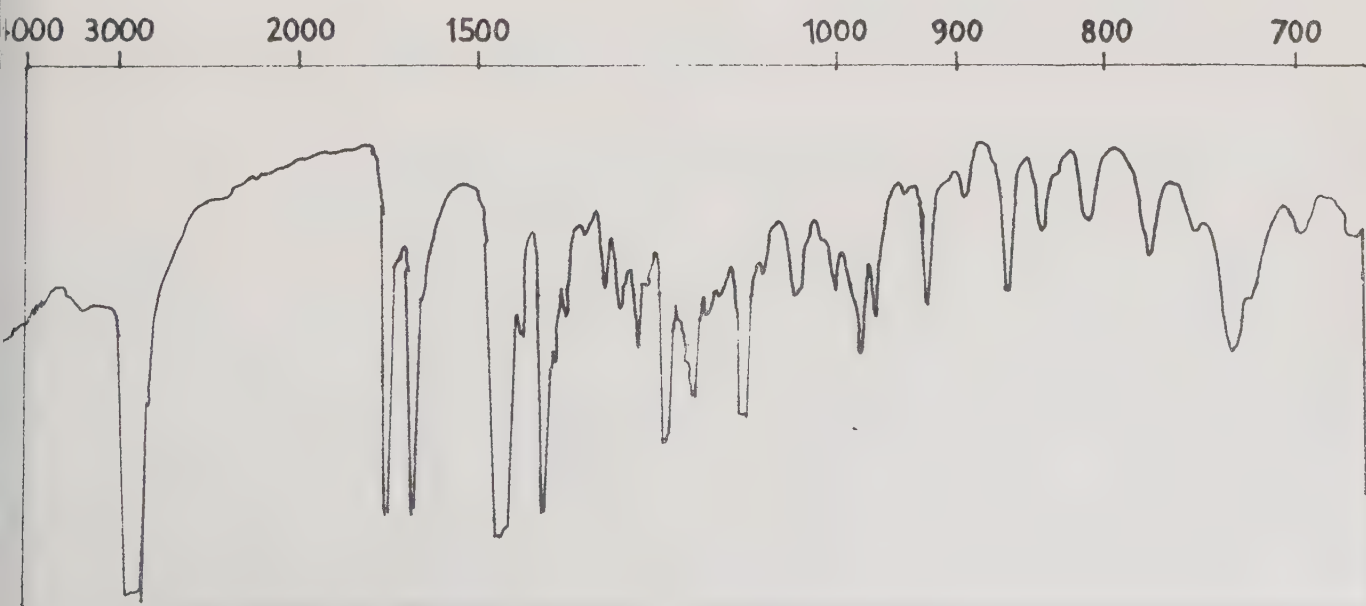
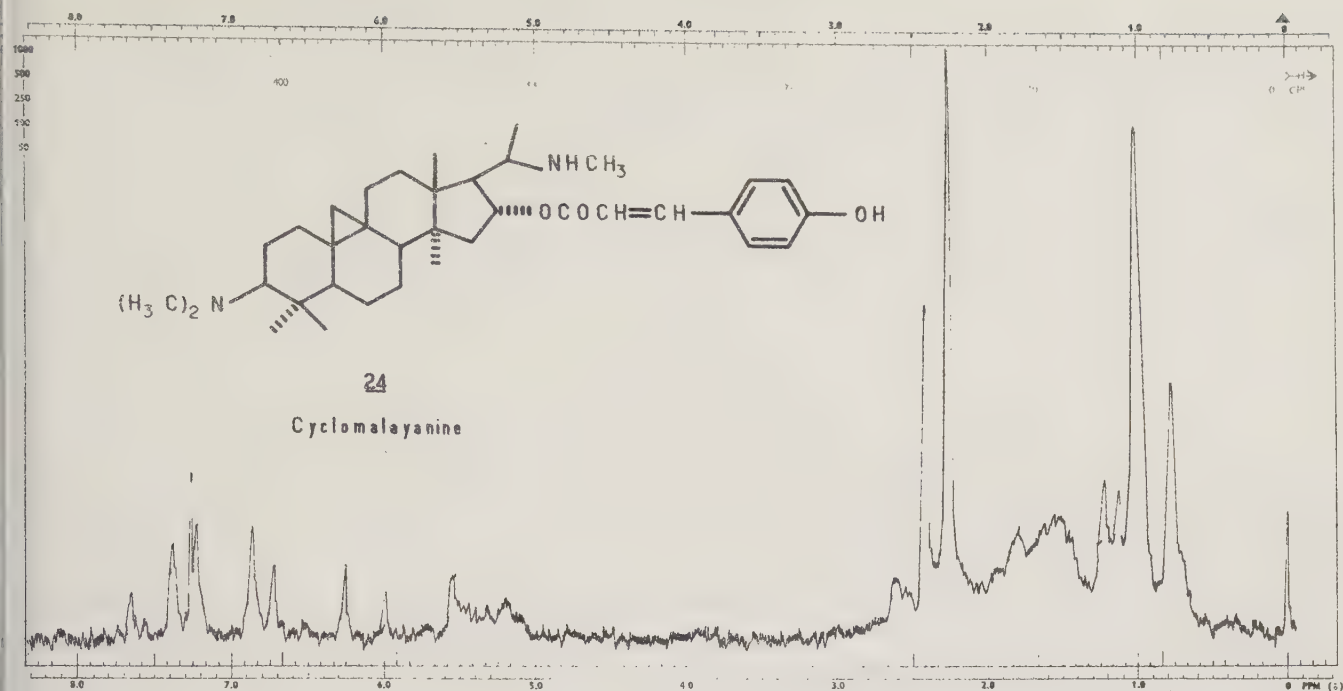
Le spectre de masse, outre la masse moléculaire $M^+ = 560$, présente le pic à m/e 58 caractéristique d'un groupe méthylamino en 20 et les pics à m/e 58, 71 et 84 d'un groupe méthylamino en 3.

PLANCHE 5



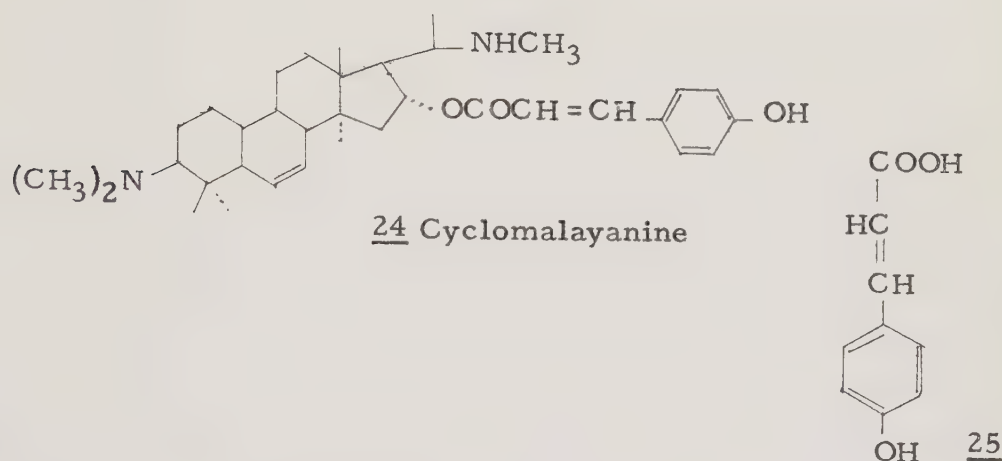
24

Cyclomalayanine



Le spectre de R.M.N. présente les signaux caractéristiques d'un CH_2 cyclopropanique, de 4 méthyles tertiaires, d'un méthyle secondaire, d'un groupe diméthylamino, d'un hydrogène en α d'une fonction ester, d'un groupement méthylamino, de deux protons éthyléniques, d'un système $\text{CH}=\text{CH}$ trans et les protons d'un cycle benzénique para-disubstitué.

Par saponification, on obtient la cyclovirobuxéine B, 19, et de l'acide coumarique ou p-hydroxy-transcinnamique, 25, $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$, $F = 216^\circ$, caractérisé par son spectre de R. M. N. et de masse.



N-FORMYLCYCLOVIROBUXEINE B

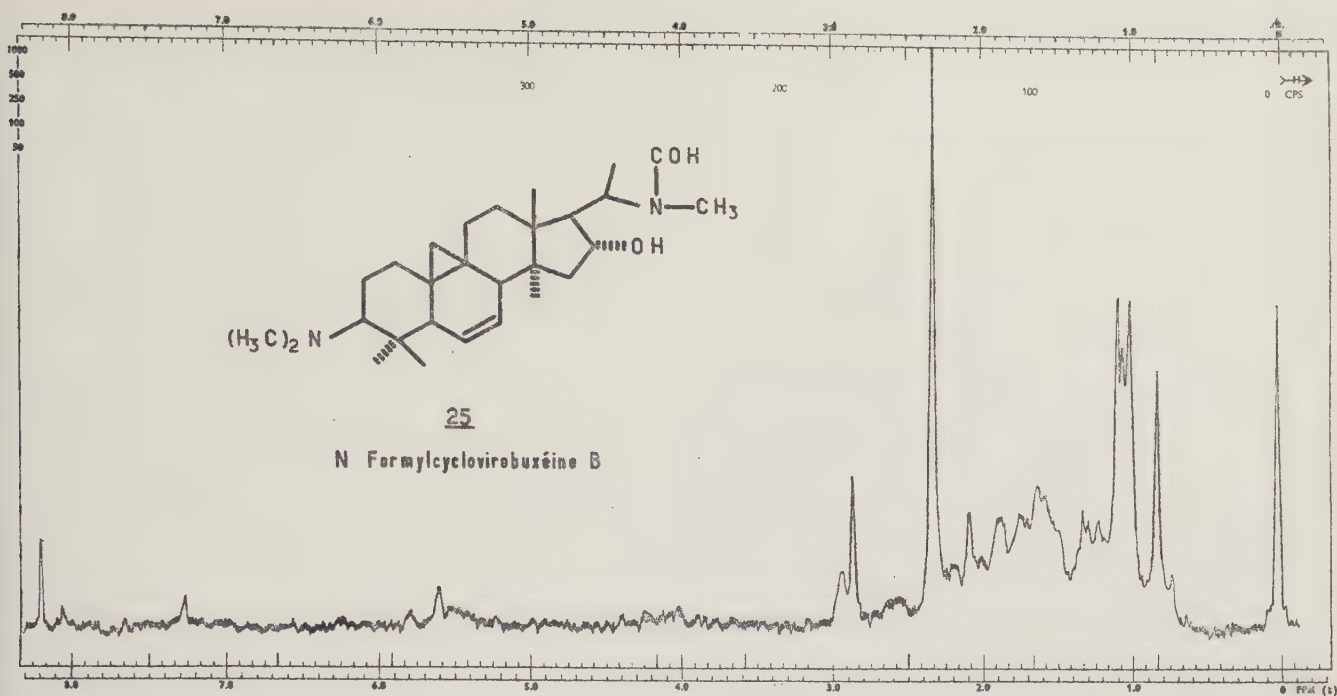
La séparation par contre courant entre un tampon à pH 5 et du chlorure de méthylène de certaines fractions benzéniques de la chromatographie des bases B des feuilles du Buxus malayana a permis l'isolement de la N-formylcyclovirobuxéine B, 26, $F = 290^\circ$, $[\alpha]_D - 157^\circ$, de formule brute $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2\text{N}_2$.

Le spectre de masse, outre la masse moléculaire $M^+ = 422$, présente les pics à m/e 58, 71 et 84, indiquant la présence d'une fonction diméthylamino en 3.

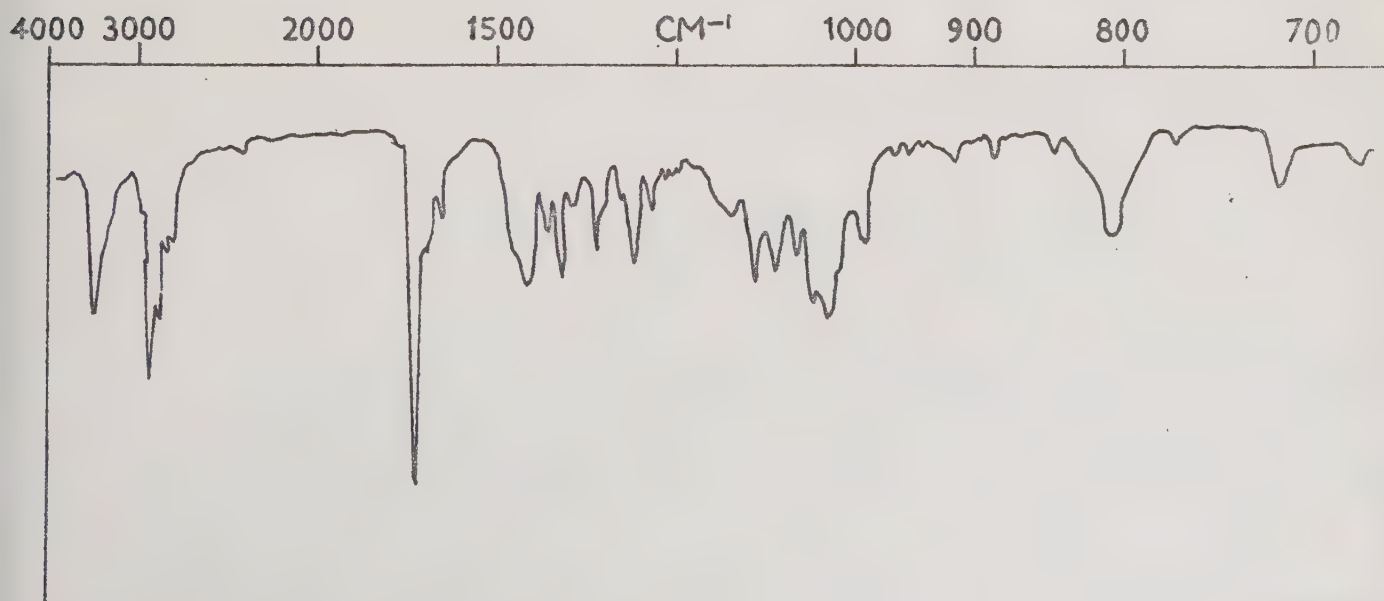
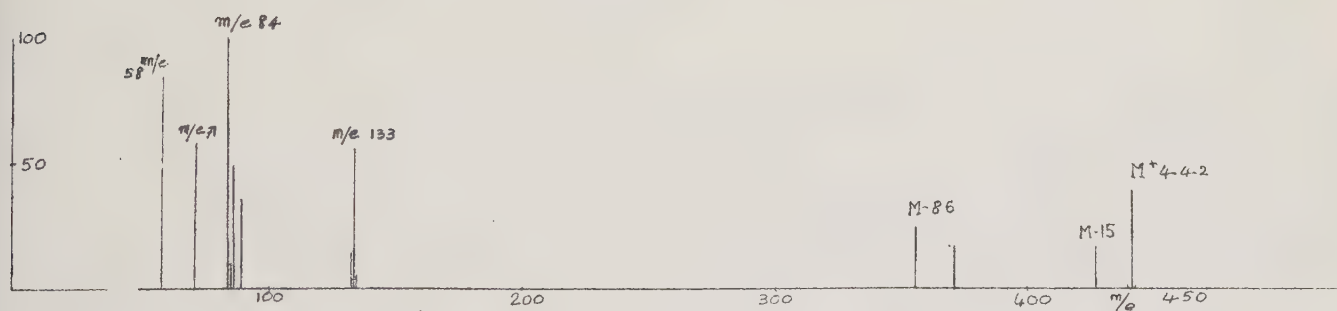
Le spectre I.R. présente les bandes d'absorption d'une fonction amide à 1700cm^{-1} .

La saponification par de la potasse éthanolique conduit à la cyclovirobuxéine B, 19a.

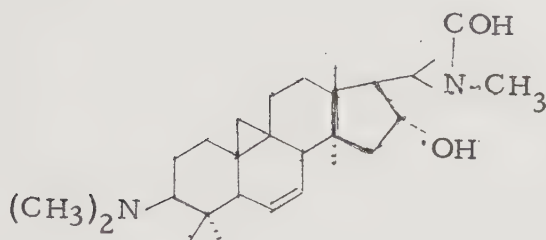
PLANCHE 6



25
N-Formylcyclovirobuxine B



La cyclovirobuxéine B, 19a, traitée par de l'acide formique en présence d'anhydride acétique, donne le dérivé N-formylé, identique à la N-formylcyclovirobuxéine B, 26.



26 N-formylcyclovirobuxéine B

CYCLOBUXOPHYLLININE F

Par cristallisation dans l'acétone des fractions benzène-éther de la chromatographie des bases B des écorces de Buxus malayana, on obtient la cyclobuxophyllinine, 27a, $F = 167^\circ$, $[\alpha]_D - 69^\circ$, $C_{25}H_{39}ON$, identique au produit extrait et étudié par NAKANO, TERAOKA et SOCHI (16) du Buxus microphylla. Il s'agit du méthylamino-3 β cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α Δ -17 cis one-16.

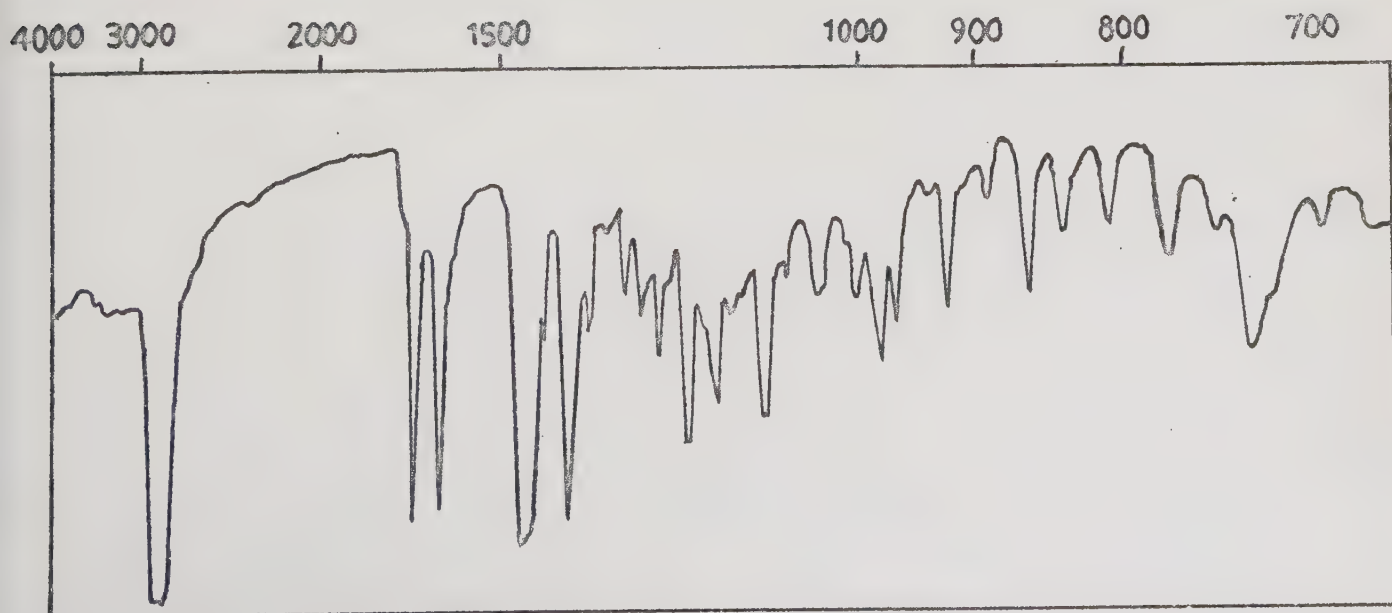
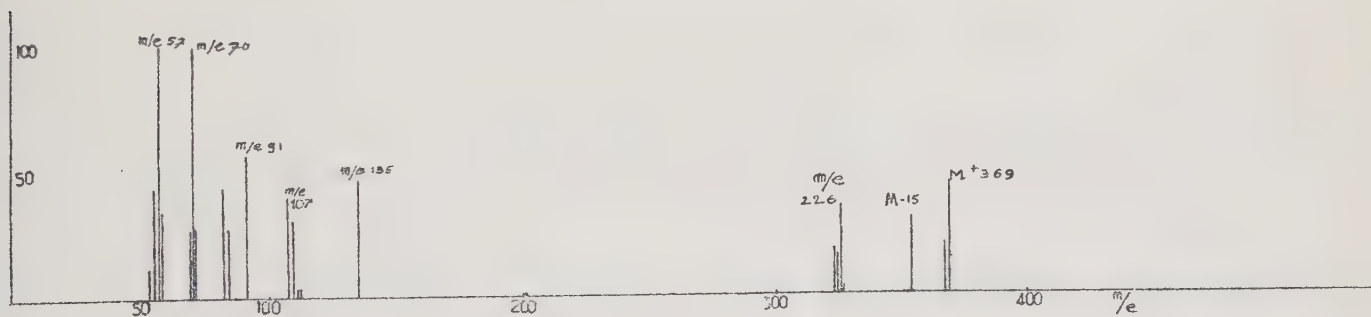
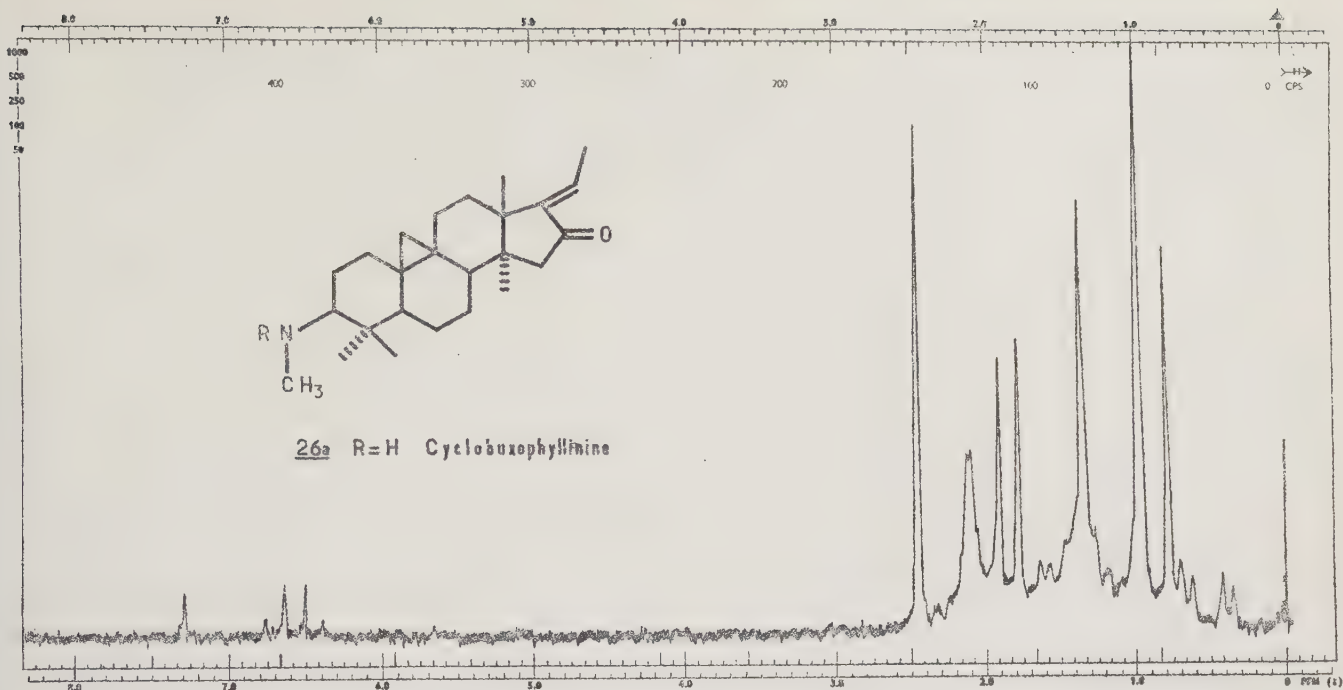
Le spectre U.V. présente un maximum d'absorption à 244nm ($\epsilon = 10970$).

Le spectre I.R. présente une bande à 1712cm⁻¹ (C=O) et une bande à 1641cm⁻¹ (C=C) indiquant la présence d'une cétone sur un cycle à 5 chaînons et conjuguée.

Le spectre de masse indique le poids moléculaire, $M^+ = 369$, et les pics à m/e 57, et 70 d'un groupement méthylamino en 3.

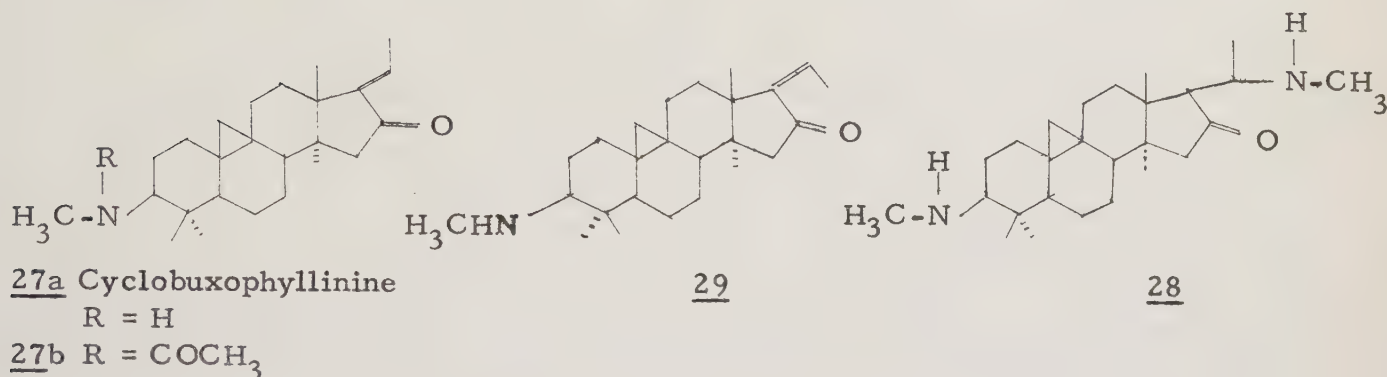
Le spectre de R.M.N. présente les signaux d'un CH₂ cyclopropanique, de 4 méthyles tertiaires, d'un doublet d'un méthyle secondaire en α d'une double liaison, d'un groupement méthylamino, d'un proton oléfinique β conjugué sous la forme d'un quadruplet à 6,56ppm. Ce système est caractéristique du système Δ^{17} cis one-16, ainsi que l'a indiqué KUPCHAN (18).

PLANCHE 7



L'acétylation pyridinée conduit au dérivé N-acétylé 27b.

La cyclovirobuxine D, 11a, oxydée par l'anhydride chromique dans l'acide acétique, conduit à la cétone 28, qui, traitée en milieu alcalin, conduit au mélange des 2 cyclopentanones conjuguées trans 29 et cis 27a. Après acétylation, la cétone Δ^{17} cis a pu être séparée par chromatographie et est identique au produit naturel.



ESTER VANILLIQUE DE LA CYCLOVIROBUXINE D

L'ester vanillique de la cyclovirobuxine D, 30, $F = 210^\circ$, $[\alpha]_D = 0 \pm 2$, de formule brute C₃₄H₅₂O₄N₂, a été obtenu par cristallisation dans l'acétone des fractions de la chromatographie des bases A des écorces du Buxus malayana.

Son spectre I.R. présente les bandes d'absorption d'une fonction ester conjuguée à 1710, 1600 et 1260cm⁻¹.

Son spectre de R.M.N. présente un CH₂ cyclopropanique, 4 méthyles tertiaires, un méthyle secondaire, 2 groupes NCH₃, un groupement méthoxy et un système aromatique trisubstitué présentant 2 hydrogènes à couplage ortho et un hydrogène sous forme d'un singulet, et un hydrogène en α de la fonction ester.

Par saponification, on obtient la cyclovirobuxine D, 11a et l'acide vanillique ou acide méthahydroxyparameéthoxybenzoïque, 31, identique à un échantillon obtenu par synthèse partielle à partir du vanillal (19).

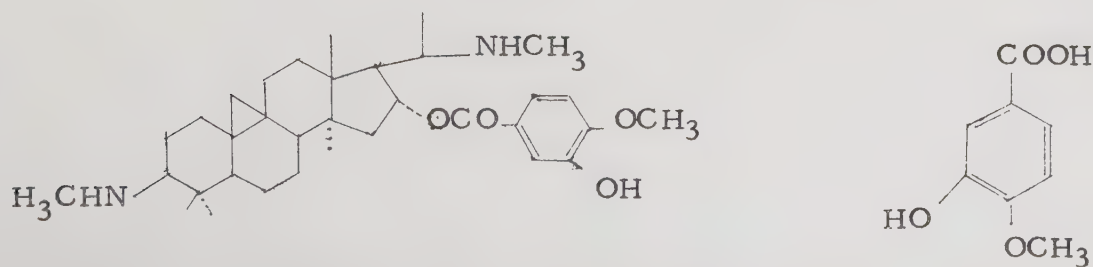
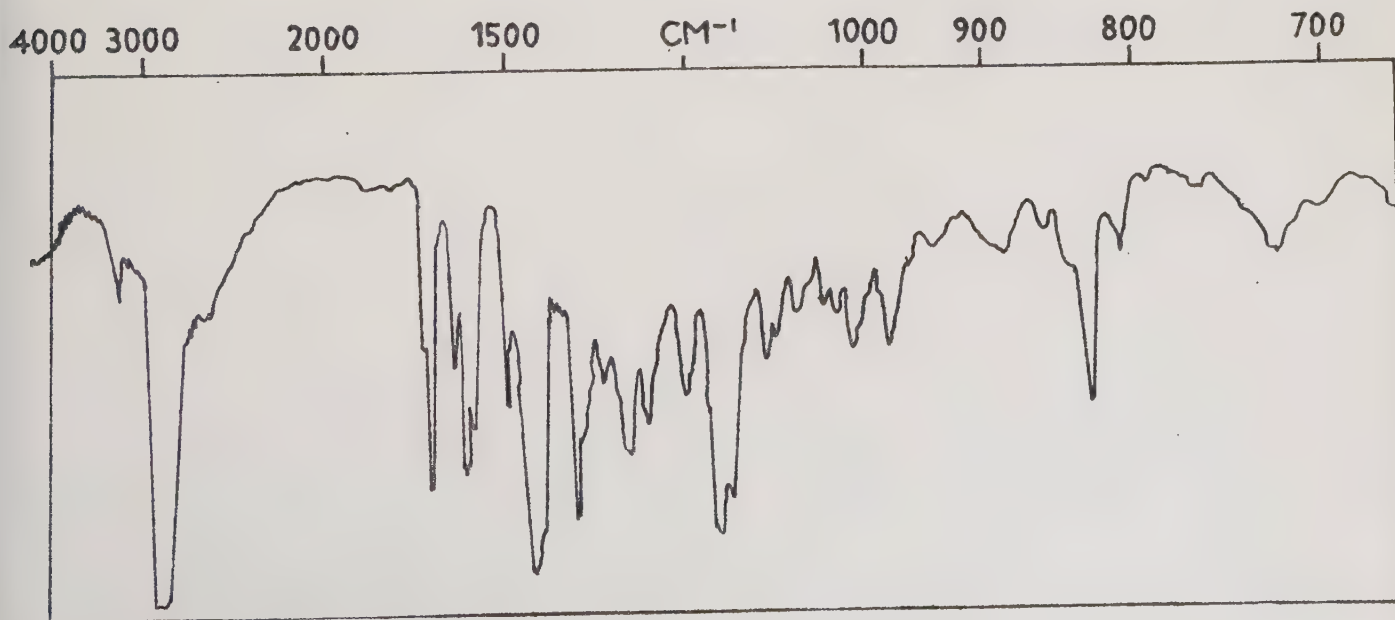
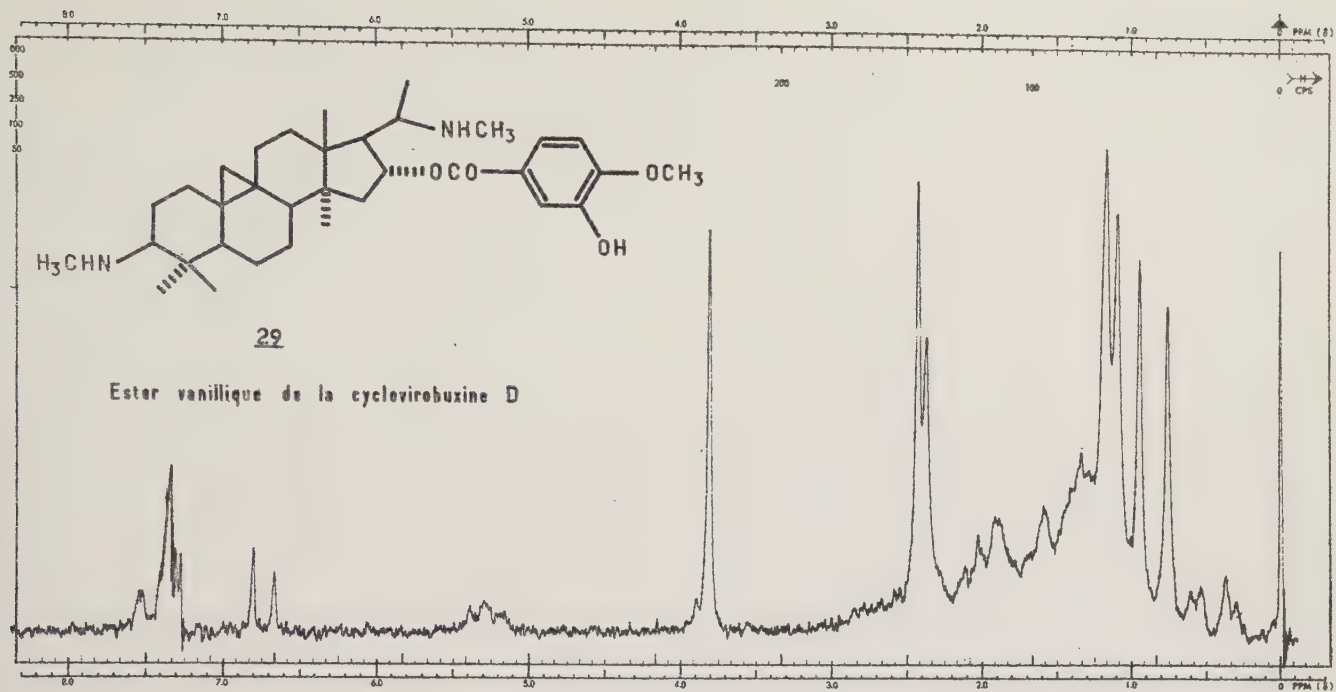


PLANCHE 8



PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion corrigés ont été pris en tubes capillaires avec un appareil W. Büchi, d'après TOTTOLI ; les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec le Quick-polarimètre électronique Jouan-Roussel ; les spectres I.R. ont été effectués (produit en suspension dans le nujol ou en pastille KBr) sur spectrographe Infracord Perkin-Elmer ou sur Unicam SP 100 ; les maxima d'absorption sont donnés en cm^{-1} ; les spectres U.V. ont été effectués (produit en solution dans l'éthanol à 95°) sur un spectrographe Unicam SP 700 ; les maxima d'absorption sont donnés en nm ; les spectres de R.M.N. ont été réalisés dans le deutério-chloroforme ou dans l'acide trifluoroacétique, avec l'appareil Varian A-60 ; les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm, les constantes de couplage (J) en cycle/seconde (référence 0 : tétraméthylsilane) ; les spectres de masse ont été exécutés sur Atlas CH₄ ou MS 9 ; les chromatographies en couche mince ont été effectuées sur plaques de gel de silice alcalin selon STAHL et révélées par le réactif de Dragendorff ; l'alumine Merck est utilisée pour la chromatographie sur colonne ; les micro-analyses ont été faites dans les laboratoires de Microanalyse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles.

La distribution à contre courant a été réalisée à l'aide de l'appareil "Quickfit Steadystate Distribution Machine 210/25 F".

x

x x

EXTRACTION DES FEUILLES DU BUXUS MALAYANA

5kg de feuilles sont séchés, finement pluvérisés et traités par fractions de 700g, par agitation à température ambiante dans un mélange de chlorure de méthylène (1 l.), éther (1 l.), éthanol 95 (1 l.) et ammonique (175ml).

Après une heure d'agitation, le solvant est séparé par essorage et la même opération est recommencée 4 fois sans ammoniacque. Les solvants sont concentrés sous pression réduite et le résidu est repris par de l'éther (5 l.). Les alcaloïdes sont extraits de la solution étherée par agitation avec une solution saturée d'acide amidosulfonique (10 l. en 5 fois).

Les phases acides, alcalinisées à pH 9 par de l'ammoniacque, sont extraites par 60 litres de chlorure de méthylène qui sont lavés avec de l'eau, séchés sur sulfate neutre de sodium et évaporés à sec. On obtient un résidu d'alcaloïdes totaux pesant 136g.

Ce résidu est dissous dans 1 l. de chlorure de méthylène et agité avec un litre de solution tampon à pH 5 (pour 10 l. d'eau, 146ml d'acide acétique, 140ml d'ammoniacque). Après décantation, le chlorure de méthylène est soutiré et traité de la même façon par agitation avec 4 litres de solution tampon contenus dans 4 ampoules à décantation. Les 5 litres de solution tampon sont ensuite traités de la même façon par 4 litres de chlorure de méthylène. Les solutions organiques sont réunies, séchées et évaporées à sec sous pression réduite. On obtient ainsi un résidu pesant 105g., constitué par les bases du lot B. Les solutions tampon réunies sont alcalinisées à pH 9 par addition d'ammoniacque et on extrait ainsi par du chlorure de méthylène 31 g. de bases, lot A.

Chromatographie du lot A

31g. de bases A sont dissous dans 1 l. de benzène. On filtre 3g. d'insoluble et cette solution est chromatographiée sur 1 kg. d'alumine d'activité III. L'éluat est recueilli par fractions de 1 l.

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 4	benzène	0,210g	
5 - 8	éther	5,482	cristallisés dans l'acé- tone donnent 1,6g de <u>cyclovirobuxine D</u>
9 - 12	éther	1,45	
13 - 15	éther/ éthanol	0,97	cristallisé dans l'acétone
16 - 25	éther/ éthanol 5%	7,05	cristallisé dans l'acétone
26 - 38	éther/ éthanol 20%	11,24	
39 - 40	méthanol	1,60	

L'étude de la distribution à contre-courant du lot A n'a conduit à aucun résultat.

Chromatographie du lot B

105g. de bases sont dissous dans 3 l. de benzène et, après séparation d'un insoluble pesant 4g., chromatographiés sur 3 kg. d'alumine d'activité III, on élue par fractions de 3 l.

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 2	benzène	1,12g	90mg de <u>cycloprotobuxine A</u> cristallisés dans l'acétone
3	benzène	5,43	<u>cyclovirobuxéine A</u> , cristalli- sée dans l'acétone, 2,38g.
4 - 6	benzène	6,18	mélange cristallisé, 1,75g.
7 - 13	benzène	5,31	
14 - 15	benzène/éther	14,71	rechromatographiés
16 - 19	éther	6,51	
20	éther/éthanol	6,06	

EXTRACTION DES FEUILLES DU BUXUS MALAYANA

5kg de feuilles sont séchés, finement pluvérisés et traités par fractions de 700g, par agitation à température ambiante dans un mélange de chlorure de méthylène (1 l.), éther (1 l.), éthanol 95 (1 l.) et ammoniac (175ml).

Après une heure d'agitation, le solvant est séparé par essorage et la même opération est recommencée 4 fois sans ammoniac. Les solvants sont concentrés sous pression réduite et le résidu est repris par de l'éther (5 l.). Les alcaloïdes sont extraits de la solution étherée par agitation avec une solution saturée d'acide amidosulfonique (10 l. en 5 fois).

Les phases acides, alcalinisées à pH 9 par de l'ammoniac, sont extraites par 60 litres de chlorure de méthylène qui sont lavés avec de l'eau, séchés sur sulfate neutre de sodium et évaporés à sec. On obtient un résidu d'alcaloïdes totaux pesant 136g.

Ce résidu est dissous dans 1 l. de chlorure de méthylène et agité avec un litre de solution tampon à pH 5 (pour 10 l. d'eau, 146ml d'acide acétique, 140ml d'ammoniac). Après décantation, le chlorure de méthylène est soutiré et traité de la même façon par agitation avec 4 litres de solution tampon contenus dans 4 ampoules à décantation. Les 5 litres de solution tampon sont ensuite traités de la même façon par 4 litres de chlorure de méthylène. Les solutions organiques sont réunies, séchées et évaporées à sec sous pression réduite. On obtient ainsi un résidu pesant 105g., constitué par les bases du lot B. Les solutions tampon réunies sont alcalinisées à pH 9 par addition d'ammoniac et on extrait ainsi par du chlorure de méthylène 31 g. de bases, lot A.

Chromatographie du lot A

31g. de bases A sont dissous dans 1 l. de benzène. On filtre 3g. d'insoluble et cette solution est chromatographiée sur 1 kg. d'alumine d'activité III. L'éluat est recueilli par fractions de 1 l.

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 4	benzène	0,210g	
5 - 8	éther	5,482	cristallisés dans l'acétone donnent 1,6g de <u>cyclovirobuxine D</u>
9 - 12	éther	1,45	
13 - 15	éther/ éthanol	0,97	cristallisé dans l'acétone
16 - 25	éther/ éthanol 5%	7,05	cristallisé dans l'acétone
26 - 38	éther/ éthanol 20%	11,24	
39 - 40	méthanol	1,60	

L'étude de la distribution à contre-courant du lot A n'a conduit à aucun résultat.

Chromatographie du lot B

105g. de bases sont dissous dans 3 l. de benzène et, après séparation d'un insoluble pesant 4g., chromatographiés sur 3 kg. d'alumine d'activité III, on élue par fractions de 3 l.

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 2	benzène	1,12g	90mg de <u>cycloprotobuxine A</u> cristallisés dans l'acétone
3	benzène	5,43	<u>cyclovirobuxéine A</u> , cristallisée dans l'acétone, 2,38g.
4 - 6	benzène	6,18	mélange cristallisé, 1,75g.
7 - 13	benzène	5,31	
14 - 15	benzène/éther	14,71	rechromatographiés
16 - 19	éther	6,51	
20	éther/éthanol	6,06	

26 - 31	éthanol	31,30g
32 - 45	méthanol	9,43
46 - 50	méthanol/ pyridine 10%	18

Chromatographie des fractions 14 - 15 : 14,71 g chromatographiés sur 420g d'alumine IV

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 3	benzène	6,71g	1,23g <u>cyclovirobuxéine B</u> cristallisé dans l'acétone
4 - 5	éther	0,38	
6 - 10	éthanol	7,50	

Chromatographie des fractions 20 - 30 : Ces fractions pesant 46,7g sont dissoutes dans 2 l. de benzène et chromatographiées sur 2 kg. d'alumine IV.

Fractions	Solvants	Poids	
1 - 5	benzène	1,90g	
6 - 16	benzène/éther	10,40	330mg <u>cyclovirobuxéine B</u>
17 - 21	éther	4,15	
22 - 25	éther/méthanol	15,25	

Chromatographie des eaux-mères des fractions 1-13 de la première chromatographie des bases du lot B. Ces fractions (12g) sont reprises par du benzène et filtrées et, après une nouvelle dessiccation, sont reprises par 500ml de benzène et chromatographiées sur 360g d'alumine IV. On recueille par fractions de 400ml.

Fractions	Solvants	Poids	
1	benzène	0,750g	
2 - 8	benzène	2,92	
9 - 20	benzène/éther	2,76	960mg <u>cyclomalayanine</u> crist. acétate d'éthyle
21 - 32	éther	5,18	
33	éthanol	0,39	

Séparation par contre-courant du lot B

Les fractions cristallisées obtenues dans la chromatographie des bases du lot B soit les fractions éther, éther-éthanol, sont réunies et la résolution de ce mélange a été réalisée par distribution à contre-courant dans un appareil Quickfit Steady-State, entre un tampon à pH 5 et une phase organique, Cl_2CH_2 , non miscibles.

36g de mélange sont introduits dans les premiers tubes de l'appareil Quickfit, 10 l. de phase supérieure constituée par un tampon acide acétique-ammoniaque (10 l. eau, 146ml acide acétique, 140ml ammoniaque) et 10 l. de phase organique lourde, chlorure de méthylène. Après 100 transferts :

- des tubes 1 à 3 4,275g mousse jaune
- des tubes 4 à 36 1,446g mélange cristallisé dans l'acétone
- des tubes 37 à 56 610mg de N-formylcyclovirobuxéine B
- des tubes 57 à 71 2,445g
- des tubes 72 à 83 4,920g rechromatographiés sur alumine
d'activité III, les fractions benzéniques
donnent 310mg de cyclovirobuxéine A
- des tubes 84 à 100 4,920g mélange réintroduit dans la machine.

Etude du contre-courant sur les tubes 84 à 100

On utilise, dans ce cas un tampon à pH 6,4 (pour 1 l. d'eau, 0,5cm³ de PO₄H₂K ; 0,1 N et 13,9cm³ de NaOH 0,1 N)

L'introduction a été faite dans les tubes au milieu de l'appareil :

- - 15 à - 25	1g qui donne 410mg de <u>cyclovirobuxéine A</u>
- + 15 à + 27	1,560g de mélange qui est rechromatographié (880mg de <u>cyclovirobuxine C</u>)
- + 28 à + 50	640mg de <u>cyclovirobuxine D</u>
- - 12 à - 14	3,300g de <u>cycloprotobuxine C</u>

EXTRACTION DES TIGES ET RAMEAUX

Cette extraction a été faite au Laboratoire d'Extraction de Gifs/Yvette.

12Kg de tiges et de rameaux, finement broyés, sont mis à macérer pendant 12 h. à 20° dans un appareil "Tournaire" avec 25 l. de chlorure de méthylène, 25 l. d'éthanol à 95° et 3 l. d'ammoniaque, puis sont traités 4 h. avec agitation. Après essorage, l'opération est recommencée 5 fois en utilisant, à chaque fois, 18 l. d'éthanol à 95°, 18 l. de chlorure de méthylène.

Les jus obtenus sont concentrés sous pression réduite à 2 litres.

Le résidu est repris par 2,5 l. d'éther et cette solution est épuisée par 25 l. d'acide amido-sulfonique N et 1 l. d'acide chlorhydrique N.

Les jus acides sont, ensuite, alcalinisés par 5l. d'ammoniaque et 1 l. de soude N et sont extraits avec 50 l. de chlorure de méthylène (en 5 fois). Le chlorure de méthylène est lavé à l'eau, séché sur du sulfate de sodium et on obtient 97 g d'alcaloïdes totaux.

SEPARATION DES ALCALOÏDES

La séparation des bases en deux lots, A et B, s'effectue au moyen d'un séparateur liquide-liquide Quickfit "Mixer Settler 3 étages", par distribution entre une solution tampon à pH 5 (eau 10 l., acide acétique 146cm³, ammoniaque 140cm³) et du chlorure de méthylène. Le lot A est constitué par les bases solubles dans la phase aqueuse à pH 5, le lot B est constitué par les bases extraites par du chlorure de méthylène.

LOT A

La phase aqueuse A est alcalinisée à pH 9 par addition de 5 l. d'ammoniaque et extraite par 30 l. de chlorure de méthylène (10 l. en 3 fois). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, concentrée sous pression réduite; on obtient 60 g. de lot A.

Ces extraits sont mis en solution dans 1,5 l. de benzène, après séparation d'un insoluble pesant 4 g., ils sont chromatographiés sur alumine d'activité III (6% d'eau). L'éluat est recueilli par fractions de 1,5 l.).

Chromatographie

Benzène	1 à 12	29,190g. cristallisés dans l'acétone donnent 4,5g de <u>cyclovirobuxine D</u>
Ether	13 à 20	14,470g cristallisés dans l'acétone donnent 1,780g d' <u>ester vanillique de la cyclovirobuxine D</u>
Ether/éthanol 1%	21 à 32	12,900g mélange

LOT B

La phase organique est lavée avec 10 l. d'eau ammoniacale (500cm³ NaOH pour 10 l. d'eau), puis avec de l'eau salée, séchée, évaporée sous pression réduite. On obtient 19,700g d'extract brut B.

Chromatographie

Une première chromatographie sur Al_2O_3 d'activité IV, donne :

Benzène	1 à 9	2,05 g
Ether	9 à 22	15,95
Ethanol	22 à 30	880mg

Une deuxième chromatographie des fractions 9 à 22, 15,95 g, sur alumine d'activité III :

Benzène	1 à 10	5,6 g
Ether		10,45 g

3ème chromatographie :

Sur 168g d'alumine normale, les fractions benzéniques, 5,6g, sont chromatographiées :

Benzène	1 à 5	1,400g cristallisé dans l'acétate d'éthyle et donne 650mg de <u>cyclo-</u> <u>buxophyllinine</u>
Ether	6 à 8	4,2g donne 2,5g de <u>cyclobuxophylli-</u> <u>nine</u> cristallisés dans l'acétate d'éthyle.

CYCLOPROTOBUXINE C, 1

Elle est obtenue du lot B du Buxus malayana, par contre-courants successifs (pH 5, puis pH 6,4) des fractions benzéniques de la chromatographie des bases faibles après séparation de la cyclovirobuxéine A et de la cyclovirobuxine D.

$$F\ 212^{\circ} ; [\alpha]_D + 78^{\circ} (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

L'étude des spectres de masse, I.R. et de R.M.N. démontre qu'elle est identique à l'alcaloïde extrait du Buxus balearica et du Buxus sempervirens et dont la structure a été établie par CALAME (6).

Désamination oxydante de la cycloprotobuxine C, cétone 4

(diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4,4', 14 α prégnane-5 α one-3)

A 500mg de cycloprotobuxine C, en solution dans 10ml de chlorure de méthylène, sec, on ajoute 180mg de N-chloro succinimide. Après 1 h. d'agitation magnétique, la solution est lavée à l'eau, (5), évaporée à froid, sous pression réduite. Le résidu est traité par 100ml de méthanolate de sodium, 1 h. à reflux sous atmosphère d'azote. Après refroidissement, la solution est versée dans 100 d'acide sulfurique 2N. Après 12 h. on alcalinise avec de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène 490mg de produit qui sont chromatographiés sur alumine Merck. Après élution par du benzène, on obtient 290mg de cétone, 25.

$$F\ 188^{\circ} , [\alpha]_D + 27^{\circ} (\text{CHCl}_3, c = 0,15).$$

Les spectres I.R., de R.M.N. et de masse montrent que ce produit est identique au diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4,4', 14 α prégnane-5 α one-3 (6).

Réduction de la cétone 4 (hydroxy-3 β diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α)

A 300mg de produit en solution dans 30cm³ de méthanol, on ajoute, peu à peu, 300mg de borohydrure de sodium et on poursuit l'agitation magnétique pendant 4 h. La solution est ensuite diluée à l'eau et extraite par du chlorure de méthylène, pour donner 300mg d'hydroxy-3 β diméthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , (6), cristallisés dans le méthanol.

$$F\ 175^{\circ}(\text{sublimé})\quad [\alpha]_D + 48^{\circ}\ (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{ON}$

calc. %	C 80,86	H 11,70	N 3,61	O 4,13
tr. %	81,03	11,82	3,59	4,12

Spectre de masse : M^+ (387), $M-2$, $M(-152)$, m/e 72 pic de base.

Oxydation chromique de 4 : (hydroxy-3 β N-méthylformamido-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α)

300mg de produit dissous dans 24 ml de pyridine anhydre, sont traités par 800mg d'anhydride chromique dans 24ml de pyridine anhydre, 48 h. à 60°. La solution est ensuite alcalinisée par une solution de carbonate de sodium saturé et extraite par de l'éther.

L'extract sec est réduit par 300mg de borohydrure de Na, en solution dans du méthanol, en 4 h. avec agitation magnétique. La solution est extraite par du chlorure de méthylène. On obtient 280mg de 6, $F\ 208^{\circ}$ (sublimé), $[\alpha]_D = +9^{\circ}5$ (CHCl_3 , $c = 0,5$).

Analyse : $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{O}_2\text{N}$

calc. %	C 77,75	H 10,79	N 3,49	O 7,97
tr. %	77,43	10,66	3,26	8,09

Spectre I.R. : OH à 3400cm⁻¹ ; NCH₃COH à 1655cm⁻¹.

Spectre de masse : M^+ (401) ; m/e 58 ; m/e 86, pic de base.

Spectre de R. M. N. : CH₂ système AB à 0,36 et 0,58ppm (J 5 cps); méthyle secondaire, doublet ($J = 6$ cps) à 1,01ppm ; 4 méthyles tertiaire singuliers à 1,06, 1,11, 1,18 et 1,28ppm ; 2 singulets NCH_3 rotamères à 2,76 et 2,83ppm ; signal d'un proton en COH α d'un alcool secondaire centré à 3,43ppm ; 2 rotamères de l'hydrogène du groupement formamido, singulets à 8 et 8,11ppm

Hydroxy-3 β méthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α

prégnane-5 α , 7

200mg de formamide sont dissous dans 10ml d'éthylamine anhydre ; on ajoute peu à peu 200mg de lithium en agitant. Après apparition d'une couleur bleue, on continue l'agitation pendant 15 minutes. L'excès de lithium est détruit par addition de méthanol. On dilue par de l'eau et extrait par du chlorure de méthylène. Après évaporation à sec sous pression réduite, on obtient 200mg de produit que l'on chromatographie sur 6g d'alumine Merck. L'éluat à l'éther donne 160mg d'hydroxy- 3 β méthylamino-20 α cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α , cristallisant dans de l'acétate d'éthyle,

F 155° (sublimé) $[\alpha]_D + 45^\circ$ (CHCl₃, c = 0,4)

Analyse : C₂₅H₄₃O N

calc. %	C 80,37	H 11,60	N 3,75
tr. %	79,76	11,74	3,61

Spectre de R. M. N. : système AB du méthylène cyclopropanique (J=5cps) à 0,31 et 0,60ppm ; doublet du méthyle secondaire (J = 6cps) à 1,06ppm ; singulets des quatre méthyles tertiaires à 0,81, 0,91, 0,99 et 0,99ppm ; singulet du méthyle de l'amine secondaire à 2,41ppm ; CHOH, multiplet centré à 3,33ppm.

Spectre de masse : M+ (373), m/e 86 ; m/e 58 pic de base.

Désamination selon Ruschig de 7 : hydroxy-3 β cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α
prégnane-5 α one-20, 3

A 160mg de produit, en solution dans 5ml de chloroforme, on ajoute 55mg de N-chlorosuccinimide. Après une heure d'agitation magnétique, la solution est lavée dans 5ml d'eau, évaporée à froid sous pression réduite, Le résidu blanc de chloramine est traité par 10ml de méthanolate de sodium à 1%, une heure à reflux sous azote. Après refroidissement, la solution est versée dans 20ml d'acide sulfurique 2N. Après 12 heures, on alcalinise par de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène 80mg de produit cétonique qui sont chromatographiés sur 2,4g d'alumine. Les fractions d'élution par le benzène-éther donnent 20mg de produit pur, vérifié par chromatographie sur couche mince.

F 216-17° (sublimé) $[\alpha]_D + 107^\circ$ (CHCl₃, c = 0,9)

Analyse : $C_{24}H_{38}O_2$

calc. %	C 80,39	H 10,68	O 8,92
tr. %	80,34	10,73	8,92

Spectre de masse : M^+ 358 ; m/e 43 ; m/e 41 ; m/e 69.

Spectre de R. M. N. : système AB du cyclopropane ($J = 5$ cps) à 0,30 et 0,60 ppm
4 singulets de méthyles tertiaires à 0,80, 0,90, 0,96 et 0,96 ppm ; singulet du $COCH_3$ à 2,10 ppm ; multiplet du proton en α de l'alcool en 3 à 2,95 ppm.

DIFORMYLCYCLOPROTOBUXINE D, 9

100mg de cycloprotobuxine A, 8, en solution dans 6ml de pyridine anhydre, sont traités par 200mg d'anhydride chromique, en solution dans 6ml de pyridine anhydre, 48 h. à 60° avec agitation magnétique. Après alcalinisation par une solution de carbonate de sodium saturée et extraction par du chlorure de méthylène, on obtient 90mg qui sont purifiés par filtration sur alumine Merck, les fractions éluées à l'éther donnent 50mg de diformylcycloprotobuxine D.

$$F\ 274^\circ \quad [\alpha]_D + 30^\circ \text{ (CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $C_{28}H_{46}O_2N_2$

calc. %	C 75,97	H 10,47	N 6,33	O 7,23
tr. %	76,17	10,33	6,07	6,88

Spectre de R. M. N. : système AB du méthylène cyclopropanique ($J = 5$ cps) à 0,38 et 0,61 ppm ; 4 méthyles tertiaires, singulets à 0,87, 0,87, 0,95 et 1,05 ppm ; doublet du méthyle secondaire ($J = 6$ cps) à 1,11 ppm ; NCH_3COH , deux singulets des deux rotamères à 2,76 et 2,80 ppm ; singulets des deux rotamères de l'autre NCH_3COH à 2,86, 2,90 ppm ; hydrogènes en α d'un azote, multiplet centré à 3 ppm et de l'autre azote, multiplet centré à 3,50 ppm ; singulets des deux rotamères des deux NCH_3COH à 7,96 et 8,01 ppm.

CYCLOPROTOBUXINE D, 10

220mg de diformylcycloprotobuxine D, dissous dans 50ml d'éthylamine, sont traités par 200mg de lithium, ajoutés par petits fragments. On poursuit l'agitation magnétique 10 minutes, après apparition d'une coloration bleue. On ajoute 1 ml de méthanol pour détruire l'excès de lithium, on dilue par de l'eau et extrait par du chlorure de méthylène 185mg de produit qui, chromatographiés sur 5,5g d'alumine d'activité III, donnent 60mg de cycloprotobuxine D dans les fractions éluées par du benzène.

$$F\ 129^{\circ} \quad [\alpha]_D + 87^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{N}_2$

calc. %	C 80,76	H 11,99	N 7,25
tr. %	80,80	11,61	7,11

Spectre de masse : $M+ 386$; $m/e\ 44$; $m/e\ 57$; $m/e\ 70$, NHCH_3 en 3 ; $m/e\ 58$, pic de base, NHCH_3 en 20.

Spectre de R. M. N. : système AB, CH_2 cyclopropanique à 0,28 et 0,56ppm ($J = 5\text{cps}$) ; doublet méthyle secondaire ($J = 6\text{cps}$) à 0,98ppm ; 4 singulets méthyles tertiaires à 0,76, 0,91, 0,98 et 0,98ppm ; 2 NCH_3 à 2,45ppm.

CYCLOVIROBUXINE D, 11a

Elle est obtenue des bases fortes extraites des feuilles du Buxus malayana, dans les fractions d'élution par du benzène de la chromatographie sur alumine d'activité III (à 6% d'eau). Elle est purifiée par cristallisation dans de l'acétone.

$$F\ 220^{\circ} \quad [\alpha]_D + 63^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1,5)$$

Analyse : $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{ON}_2$

calc. %	C 77,55	H 11,52	O 3,97	N 6,96
tr. %	77,47	11,47	3,86	7,27

Spectre de R. M. N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J = 5\text{cps}$) à 0,30 et 0,53ppm ; un doublet du méthyle en 21 ($J = 6\text{cps}$) à 1,11 ppm ; 4 singulets de $\text{C}-\text{CH}_3$ à 0,75 et 0,95, 0,96 et 1,11 ppm ; 2 $\text{NH}-\text{CH}_3$, singulet à 2,45ppm ; un multiplet centré à 4,10ppm de l'hydrogène en α de l'alcool en 16

Spectre de masse : m/e 57 ; m/e 70 (NHCH_3 en 3) ; m/e 58, pic de base (NHCH_3 en 20) ; $M+ 402$, $M-15$.

TRIACETYL CYCLOVIROBUXINE D, 11b

100mg de cyclovirobuxine D sont laissés en contact avec 2ml de pyridine anhydre et 2ml d'anhydride acétique. Après évaporation à sec, on reprend le résidu par de l'eau, alcalinise avec de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène. 130mg de dérivé acétylé sont obtenus qui cristallisent dans de l'éther.

$$F\ 231^\circ \quad [\alpha]_D - 52^\circ \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_4\text{N}_2$

calc. %	C 71,48	H 9,93	N 5,21	O 13,36
tr. %	71,55	9,78	5,19	12,96

Spectre I. R. : bandes ester à 1733 et 1236 cm^{-1} ; bandes amides à 1630 et 1610 cm^{-1} .

Spectre de R. M. N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J = 5\text{cps}$) à 0,26 et 0,60ppm ; 2 singulets de 4 $\text{C}-\text{CH}_3$ à 0,85 et 1,13 ; un doublet du méthyle en 21 ($J = 6\text{cps}$) à 0,90ppm ; 1 singulet de 3 $\text{CO}-\text{CH}_3$ à 1,96ppm ; un CHOR , multiplet à 5,05ppm.

Désamination oxydante de la cyclovirobuxine D, 12

330mg de N-chlorosuccinimide sont ajoutés à une solution de 500mg de cyclovirobuxine D, dans 20ml de chlorure de méthylène. Après 1 heure d'agitation, le chlorure de méthylène est lavé par quelques ml. d'eau, séché et évaporé à froid sous pression réduite.

La chloramine obtenue est traitée 1 h. à reflux sous azote par 20ml d'éthanolate de Na (1 pour 100). Après refroidissement, on verse la solution éthanolique dans 500ml d'acide sulfurique à 10%.

Après 24h., on alcalinise par de l'ammoniaque et on extrait par du chlorure de méthylène 480mg de produit qui sont chromatographiés sur 15g d'alumine, en solution dans du benzène. L'éluat au benzène fournit 192mg de dicétone conjuguée et à l'éther 150mg de cétone alcool.

(triméthyl-4,4', 14 α cylo-9 β 19 prégnane-5 α Δ ₁₆ dione-3,20),

$$F\ 180^{\circ} \text{ (sublimé)} \quad [\alpha]_D + 65^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Spectre I.R. : C=O conjugué, absorption à 1651cm⁻¹ ; C=O en 3 à 1700cm⁻¹ ;

Spectre U.V. : C=O maximum à 224nm, ϵ = 10226 (éthanol).

Analyse : $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_2$

calc. %	C 81,31	H 9,67	O 9,03
tr. %	81,57	9,64	9,39

Spectre de R.M.N. : système AB du méthylène cyclopropanique (J = 5cps) à 0,58 et 0,83ppm ; 4 singulets de méthyles tertiaires à 0,98, 1,06, 1,11 et 1,25ppm ; un singulet d'un méthyle en α du carbonyle à 2,26 ; un proton éthylénique, triplet (J = 2cps) à 6,66ppm.

Spectre de masse : M+ 354 ; M-15 ; M-16 ; M-44 ; m/e 43 ; m/e 55 ; m/e 67 ; m/e 69 ; m/e 79 ; m/e 91 ; m/e 135.

DIMETHYLCYCLOVIROBUXINE D = CYCLOVIROBUXINE A, 11c

60mg de cyclovirobuxine D sont traités à 100° pendant 8 h. dans un mélange de 2ml d'acide formique et 2ml de formaldéhyde à 30%. Après refroidissement, on alcalinise avec de l'ammoniaque, dilue à l'eau et extrait au chlorure de méthylène, 60mg de produit qui est obtenu cristallisé dans de l'acétone.

$$F\ 244^{\circ} \quad [\alpha]_D + 38^{\circ} \text{ (Brown et Kupchan (11) indiquent } F = 244^{\circ} \text{ } [\alpha]_D + 44^{\circ} \text{)}$$

Analyse : $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{ON}_2$

calc. %	C 78,08	H 11,70	N 6,50	O 3,71
tr. %	77,96	11,91	6,33	3,61

Spectre de R.M.N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J = 5\text{cps}$) à 0,26 et 0,53ppm ; 4 singulets de CH_3 à 0,80, 0,96, 0,96 et 1,13 ppm ; un doublet du CH_3 en 21 ($J = 6\text{cps}$) à 0,86ppm ; 2 singulets de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,25 et 2,28ppm ; un multiplet centré vers 4,05ppm pour un proton en α de la fonction alcool secondaire en 16.

Spectre de masse : $M+ 430$; $M-15^+$; coupures dues au $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 3 : m/e 58 (3%) ; m/e 71 (8%) et m/e 84 (9%) ; coupure due au $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 20 : m/e 72 (12%).

CYCLOVIROBUXINE C, 13

La cyclovirobuxine C a été isolée des bases B extraits du Buxus malayana. Les fractions benzéniques ayant été séparées par un premier contre-courant à pH 5, un mélange cristallisé a été soumis à une nouvelle séparation par contre-courant à pH 6 et a donné, après chromatographie sur alumine d'activité III, dans les fractions benzéniques, un mélange de cyclovirobuxine C et de cyclovirobuxéine C. La cyclovirobuxine C est obtenue par hydrogénation de ce mélange, ou par chromatographie préparative sur couche mince.

Hydrogénation :

50mg de produit, en solution dans 10ml d'acide acétique, sont agités 24 h. sous atmosphère d'hydrogène, en présence de 10mg de platine Adams. La solution est ensuite filtrée, évaporée à sec sous vide, reprise par de l'eau, alcalinisée et extraite par du chlorure de méthylène. On obtient 30mg de cyclovirobuxine C, par cristallisation dans de l'acétone.

$$F\ 201^\circ \quad [\alpha]_D + 65^\circ \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{ON}_2$

calc. %	C 77,82	H 11,61	N 6,72
tr. %	77,79	11,43	6,86

Spectre de masse : $M+ 416$; $M-15$; pic dû au NHCH_3 en 3 : m/e 44, m/e 57 ; m/e 70 ; m/e 84 ; pic dû au $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 20 : m/e 72 pic de base.

Spectre de R.M.N. : système AB du CH_2 cyclopropanique, 0,29 et 0,55 ($J = 5\text{cps}$) ; singulets des quatre méthyles tertiaires à 0,76, 0,96, 0,96 et 1,11ppm ; doublet du méthyle secondaire ($J = 6\text{cps}$) à 0,86ppm ; singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,01 ppm ; singulet du NHCH_3 à 2,45ppm ; multiplet de l'alcool secondaire centré sur 4,33ppm.

N-ACETYLCYCLOVIROBUXINE C, 14

100mg de cyclovirobuxine C, dissous dans 15ml de benzène anhydre, sont laissés 1 h. en contact avec 0,1ml de chlorure d'acétyle et 1g de carbonate de potassium à température ambiante. On ajoute alors 10ml de chloroforme et 10ml d'eau. Après 1 h. d'agitation magnétique, la solution est extraite par du chloroforme et évaporée à sec sous vide. L'extract brut est ensuite traité par 10ml de potasse méthanolique 2N, 1 h. sur bain-marie bouillant. La solution est concentrée, diluée à l'eau et extraite par du chloroforme et donne 50mg de N-acétylcyclovirobuxine C, cristallisés dans de l'acétone.

$$F\ 216^{\circ} \quad [\alpha]_D - 7^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Spectre I.R. : amide à 1600cm^{-1} .

Analyse : $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{N}_2$

calc. %	C 75,93	H 10,99	N 6,11	O 6,98
tr. %	75,71	10,81	6,27	7,23

Spectre de masse : $M+ 458$; $M-15^+$; m/e 72 pic de base.

Spectre de R.M.N. : système AB de CH_2 cyclopropanique à 0,30 et 0,56ppm ($J = 5\text{cps}$) ; 4 singulets des méthyles tertiaires à 0,83, 0,92, 0,98 et 1,15ppm ; singulets des deux rotamères du NCOCH_3 à 2,10 et 2,15ppm ; singulet du $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,26ppm ; singulets des deux rotamères du $\text{CH}_3\text{NCOCH}_3$ à 2,83 et 2,90ppm ; multiplet de l'H en α de l'azote à 3,16ppm ; multiplet de l'H en α de l'alcool centré à 4,33ppm

N_{20} -METHYLACETYLCYCLOVIROBUXINE D : N-ACETYLCYCLO-

VIROBUXINE C, 15

180mg de monoacétylcyclovirobuxine D sont chauffés 8 h. au bain-marie bouillant en présence de 2ml d'acide formique et 2ml de formaldéhyde à 30%. Après extraction de la solution en milieu alcalin (ammoniaque) et évaporation à sec sous vide, on traite le résidu par 10ml de potasse méthanolique 2N, 1 h. sur bain-marie bouillant. Après dilution par de l'eau et extraction par du chlorure de méthylène, on obtient 60mg de N-acétylcyclovirobuxine C, cristallisée dans de l'acétone.

$$F\ 226^{\circ} \quad [\alpha]_D - 10^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{N}_2$

calc. %	C 75,93	H 10,99	N 6,11
tr. %	75,56	11,07	6,19

Les spectres I.R., de masse et de R. M. N. sont identiques à ceux de la N-acétylcyclovirobuxine C.

CYCLOVIROBUXEINE A, 16

Elle est obtenue des bases du lot B du Buxus malayana, par chromatographie du lot B, sur alumine d'activité III, dans les fractions d'élution par du benzène, après séparation de la cycloprotobuxine A.

$$F\ 220^{\circ} \quad [\alpha]_D - 87^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{ON}_2$

calc. %	C 78,45	H 11,29	N 6,54	O 3,73
tr. %	78,49	10,85	6,92	4,00

Spectre de R. M. N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J = 5\text{cps}$) à - 0,21 et - 0,73ppm ; 4 singulets de CH_3 à 0,80, 0,93, 0,96 et 1,06 ; 1 doublet de CH_3 en 21 ($J = 6\text{cps}$) à 0,86ppm ; 2 singulets de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,23, 2,28ppm ; un multiplet centré à 4,05ppm pour un proton en α d'un alcool secondaire ; 2 protons éthyléniques sous forme d'un signal complexe centré à 5,55ppm.

Spectre de masse : pics dûs au $\text{M}^+ 428$ ($\text{M}-15$) et $m/e\ 72$ de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 20 et $m/e\ 58, 71$ et 84 dûs au $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 3.

DIHYDROCYCLOVIROBUXEINE A = CYCLOVIROBUXINE A, 11c

200mg de cyclovirobuxéine A sont dissous dans 10ml d'acide acétique. On ajoute 70mg d'oxyde de platine et agite pendant 1 h. sous atmosphère d'hydrogène. Après filtration du catalyseur et évaporation à sec, le résidu est repris à l'eau, alcalinisé par de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène. On obtient 200mg de dérivé hydrogéné cristallisant dans l'acétone.

$$F\ 244^{\circ} \quad [\alpha]_D + 38^{\circ}$$

Les spectres de masse, de R.M.N. et I.R. sont identiques à ceux de la cyclovirobuxine A.

(M) Dcyclovirobuxéine A (-372) - (M) Dcyclovirobuxine A (+ 163) = - 535 compatible avec une double liaison en 6, 7.

Mésylate de la cyclovirobuxéine A, 17

200mg de cyclovirobuxéine sont traités par 0,2ml de chlorure de mésyle, en solution dans 6ml de benzène anhydre, à température ambiante. Après 12 h. d'agitation magnétique, la solution est diluée, alcalinisée et extraite par du benzène, et on obtient 223mg d'extraît brut.

DESHYDROXYCYCLOVIROBUXEINE A : CYCLOPROTOBUXEINE A, 18

223mg de mésylate de cyclovirobuxéine A, en solution dans 50ml de dioxanne, sont traités par 200mg d'hydrure d'aluminium-lithium. Après 24 h. de reflux, l'excès d'hydrure est détruit par de l'éther aqueux, la solution est filtrée, séchée et évaporée à sec sous pression réduite.

Les 195mg d'extraît brut obtenus sont filtrés sur alumine Merck (4,5g). Les fractions éluées par un mélange benzène-hexane 1/1 donnent 135mg de cycloprotobuxéine A, cristallisée dans de l'acétone.

$$F\ 184-187^{\circ} \quad [\alpha]_D - 70^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{N}_2$

calc. %	C 81,49	H 11,72	N 6,79
tr. %	81,66	11,77	6,68

Spectre de masse : M^+ 412 ; m/e 58, m/e 71 ; m/e 84 ; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 3, m/e 72, pic de base ; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 20.

Spectre de R.M.N. : système AB du cyclopropane à -0,38 et 0,30ppm ($J=5\text{cps}$) ; doublet du méthyle secondaire à 0,81 ($J=6\text{cps}$) ; 4 méthyles tertiaires, singulets à 0,76, 0,78, 0,91 et 1,03ppm ; 2 singulets des 2 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,21 et 2,28ppm ; multiplet des deux protons éthyléniques centré à 5,50ppm.

Mésylate de dihydrocyclovirobuxéine A

200mg de dihydrocyclovirobuxéine A, en solution dans 10ml de benzène anhydre, sont traités par 0,2ml de chlorure de mésyle à température ambiante. Après 12 h. d'agitation magnétique, la solution est diluée par de l'eau et extraite par du benzène, après alcalinisation par de l'ammoniaque, on obtient ainsi 218mg de mésylate de cyclovirobuxine A.

DESHYDROXYCYCLOVIROBUXINE A : CYCLOPROTOBUXINE A, 8

200mg de mésylate de dihydrocyclovirobuxéine A, en solution dans 50ml de dioxanne, sont traités 24 h. à reflux par 200mg d'hydruure d'aluminium-lithium. Après avoir détruit l'excès d'hydruure par de l'éther aqueux, filtré, séché, évaporé à sec, on obtient 145mg d'extract brut qui sont chromatographiés sur alumine Merck, après dissolution dans un mélange hexane benzène 1/1, les fractions d'élution hexane, hexane-benzène 1/1, donnent 50mg de cycloprotobuxine A.

F 204° après cristallisation dans de l'acétone.

$[\alpha]_D + 53^\circ$ (CHCl₃, c = 1).

Analyse : C₂₈H₅₀N₂

calc. %	C 81,09	H 12,15	N 6,76
tr. %	81,16	12,13	6,72

Spectre de masse : M+ 414 ; pics m/e 58, m/e 71, 72 et 84.

Spectre de R. M. N. : système AB du méthylène cyclopropanique (J = 5cps) à 0,26 et 0,55ppm ; singulets des quatre méthyles tertiaires à 0,91, 0,95, 0,95 et 1,01ppm ; doublet du méthyle secondaire (J = 6cps) à 0,83ppm ; singulets des deux N(CH₃)₂ à 2,16 et 2,26ppm.

Spectre I. R. : identique à celui de la cycloprotobuxine A.

CYCLOPROTOBUXINE A, 8

50mg du produit de réduction par l'hydrure d'aluminium-lithium du mésylate de la cyclovirobuxéine A, en solution dans 10ml d'acide acétique, sont mis 24 h. sous atmosphère d'hydrogène, avec agitation magnétique, en présence de 10mg de platine Adams. Après filtration du catalyseur, la solution est évaporée à sec, reprise par de l'eau, alcalinisée et extraite par du chlorure de méthylène. On obtient 50mg de cycloprotobuxine A qui cristallise dans de l'acétone.

$$F\ 207^{\circ} \quad [\alpha]_D + 58^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{N}_2$

calc. %	C 81,09	H 12,15	N 6,76
tr. %	81,39	12,09	6,68

Le spectre I.R. est identique à celui de la cycloprotobuxine A.

CYCLOVIROBUXEINE B, 19a

Elle est extraite des bases du lot B du Buxus malayana, par rechromatographie des fractions éluées à l'éther sur alumine d'activité IV (9 % d'eau). L'éluat au benzène-éther (9/1) donne la cyclovirobuxéine cristallisée dans de l'acétone.

$$F\ 203^{\circ} \quad [\alpha]_D - 75^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{ON}_2, \text{H}_2\text{O}$

calc. %	C 75,30	H 10,77	N 6,51
tr. %	75,26	10,74	7,05

Spectre de masse : $M+ 414$; m/e 58, 84 et 71 (groupement diméthylamino en 3) ; m/e 58 (diméthylamino en 20).

Spectre de R. M. N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J = 5\text{cps}$) à $-0,23$ et $+0,72\text{ppm}$; 4 singulets de $\text{C}-\text{CH}_3$ à $0,78, 0,92, 0,95$ et $1,05\text{ppm}$; un doublet du méthyle en 21 ($J = 6\text{cps}$) à $1,08\text{ppm}$; un singulet de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à $2,26\text{ppm}$; un singulet de NCH_3 à $2,41\text{ppm}$; un multiplet centré à $4,10\text{ppm}$ correspondant à un proton en α d'une fonction alcool secondaire ; signal de 2 protons éthyléniques vers $5,5\text{ppm}$.

CYCLOVIROBUXINE B, 20

100mg de cyclovirobuxéine B, dissous dans 10ml d'acide acétique, sont agités sous atmosphère d'hydrogène en présence de 50mg de platine Adams, préparé à partir d'oxyde de platine. Après absorption de $5,4\text{cm}^3$ d'hydrogène, la solution est filtrée, évaporée à sec sous vide. Elle est ensuite reprise par de l'eau, alcalinisée par de l'ammoniaque et extraite par du chlorure de méthylène. On obtient 100mg de produit cristallisant dans de l'acétone.

$$F\ 244^\circ \quad [\alpha]_D + 54^\circ \text{ (CHCl}_3, c = 1)$$

Différence de rotation moléculaire (M)D cyclovirobuxéine B -

$$(M)D \text{ cyclovirobuxine B} = -302 - (+244) = -526.$$

Analyse : $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{ON}_2$

calc. %	C 77,82	H 11,61	N 6,72	O 3,84
tr. %	77,76	11,28	6,87	4,01

Spectre de R. M. N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J=5\text{cps}$) à 0,26 et 0,53ppm ; 4 singulets de $\text{C}-\text{CH}_3$ à 0,78, 0,96, 0,96 et 1,10ppm ; un doublet correspondant à un méthyle en 21 ($J = 6\text{cps}$) à 1,08ppm ; un singulet à 2,28ppm de $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, singulet du NCH_3 à 2,45ppm ; un multiplet centré à 4,10ppm correspondant à un proton en α d'une fonction alcool secondaire.

Méthylation de la cyclovirobuxine B : cyclovirobuxine A, 11c

100mg de cyclovirobuxine B sont traités par 5ml d'acide formique et 5ml de formaldéhyde à 30%, 8 h. au bain-marie bouillant. Après refroidissement, dilution à l'eau, alcalinisation par de l'ammoniaque, on extrait 100mg de cyclovirobuxine A.

$$F\ 244^\circ \quad [\alpha]_D + 38^\circ$$

Désamination oxydante de la cyclovirobuxine B cétol - cétone conjuguée

30mg de N-chlorosuccinimide sont ajoutés à une solution de 150mg de cyclovirobuxine B dans 5ml de chlorure de méthylène sec. Après une heure d'agitation magnétique, le chlorure de méthylène est repris par 5ml d'eau, séché et évaporé à sec sous vide. La chloramine obtenue est traitée par 5ml de méthanolate de sodium, 1 h, à reflux sous azote.

Après refroidissement, la solution méthanolique est versée dans 100ml d'acide sulfurique 2N et on laisse en contact 24 h. Puis, on alcalinise par de l'ammoniaque et on extrait par du chlorure de méthylène. Les 140mg de produit obtenus sont chromatographiés en solution dans du benzène, sur 4g d'alumine standardisée Merck.

L'éluat au benzène donne 40mg de cétone conjuguée Δ 16, purifiée par sublimation.

$$F\ 142^{\circ} \quad [\alpha]_D + 54^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Spectre I.R. : C=O conjugué à 1670 et 1595cm⁻¹.

Spectre U.V. : λ maximum à 243nm $\epsilon = 12000$.

Spectre de R. M. N. : système AB du CH₂ cyclopropanique (J = 5cps) à 0,30 et 0,65ppm ; 4 singulets de C-CH₃ à 0,86, 0,96, 1,08 et 1,20ppm ; un singulet de CO-CH₃ à 2,25ppm ; un singulet de N(CH₃)₂ à 2,40ppm ; un triplet d'un H éthylénique (J = 2cps) à 6,63ppm.

Analyse : C₂₆H₄₁ON

calc. %	C 81,40	H 10,77	N 3,65
tr. %	81,04	10,52	3,23

L'éluat à l'éther fournit 60mg de céto

$$F\ 257^{\circ} \quad [\alpha]_D - 28^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Spectre I.R. (nujol) : C=O à 1715cm⁻¹.

Spectre de R. M. N. : système AB du CH₂ cyclopropanique (J = 5cps) à 0,26 et 0,52ppm ; 4 singulets de C-CH₃ à 0,80, 0,95, 0,95 et 1,16ppm ; un singulet de CO-CH₃ à 2,26ppm ; un singulet de N(CH₃)₂ à 2,26ppm, un doublet (J = 6cps) hydrogène en 17 à 2,96ppm ; un multiplet du CHOH à 4,8ppm.

Désamination oxydante de la cyclovirobuxéine B : céto1 22, céto2e conjuguée 21

A 200mg de cyclovirobuxéine, en solution dans 10ml de chlorure de méthylène sec, on ajoute 63mg de N-chlorosuccinimide. Après 1 h. d'agitation magnétique, la solution est lavée à deux reprises par 1 ml d'eau et évaporée à sec sous pression réduite. La chloramine est traitée par 5ml de méthanolate de sodium 1 h. à reflux sous azote. Après refroidissement, la solution est versée dans 50ml d'acide sulfurique 2N. Après 12 h., on alcalinise par de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène 180mg de produit qui, après dissolution dans du benzène, sont chromatographiés sur 6g d'alumine standardisée Merck.

L'éluat au benzène fournit 80mg de céto2e conjuguée, purifiée par sublimation.

$$F\ 165^{\circ}\ [\alpha]_D - 22^{\circ}\ (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{ON}$

calc. %	C 81,83	H 10,30	O 4,19	N 3,67
tr. %	81,83	10,43	4,21	3,75

Spectre I.R. : (nujol) : absorption à 1670cm^{-1} d'un C=O conjugué et 1575cm^{-1} caractéristique d'une double liaison.

Spectre U.V. : λ maximum à 243 nm $\epsilon = 12000$ (éthanol).

Spectre de R.M.N. : Système AB d'un CH_2 d'un cyclopropane à - 0,30ppm ($J = 5\text{cps}$), l'autre partie n'étant pas visible nettement ; 4 singulets de C- CH_3 à 0,80, 0,80, 1,09 et 1,14ppm ; un singulet de CO- CH_3 à 2,26ppm ; un singulet du groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,28ppm ; 2 protons éthyléniques à 5,55ppm ; un triplet d'un proton éthylénique conjugué à 6,65ppm ($J=2\text{cps}$)

L'éluat à l'éther fournit 65mg de céto1

$$F\ 248^{\circ}\ [\alpha]_D - 44^{\circ}\ (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Spectre I.R. (nujol) : C=O à 1715cm^{-1} .

Spectre de R.M.N. : CH_2 d'un cyclopropane, système AB ($J = 5\text{cps}$) à - 0,16 et + 0,75ppm ; 4 singulets de C- CH_3 à 0,81, 0,86, 1,03 et 1,09ppm ; un singulet de CO- CH_3 à 2,15ppm ; un singulet d'un groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ à 2,28ppm ; un doublet de l'hydrogène en 17 à 2,97ppm ($J = 6\text{cps}$), un multiplet du CHOH à 4,95ppm ; 2 protons éthyléniques vers 5,55ppm.

Spectre de masse : $M+ 399$; $M-15-18$; $M-18$; m/e 58, 71, 84 de NCH_3 en 3, m/e 43 de $COCH_3$ en 20.

O, N-DIACETYL CYCLOVIROBUXEINE B, 17b

50mg de cyclovirobuxéine sont traités par 0,5ml d'anhydride acétique dans 0,5ml de pyridine, à température ambiante, après dissolution à chaud. Après évaporation à sec sous pression réduite, dilution avec de l'eau et alcalinisation par de l'ammoniaque, 58mg de dérivé O, N-diacétylé sont extraits par du chlorure de méthylène, cristallisant dans du méthanol.

$$F\ 172^\circ \quad [\alpha]_D - 153^\circ \quad (CHCl_3, c = 1)$$

Analyse : $C_{31}H_{50}O_3N_2$

calc. %	C 74,65	H 10,11	O 9,62	N 5,62
tr. %	74,50	10,18	9,80	5,55

Spectre I.R. (nujol) : groupe ester à 1730 et $1250cm^{-1}$; groupe amide à $1602cm^{-1}$.

MONOACETYL CYCLOVIROBUXEINE B, 17c

200mg de cyclovirobuxéine B sont traités 1 h. à température ambiante par 140mg de chlorure d'acétyle et 2g de carbonate de potassium dans 30ml de benzène anhydre. On ajoute ensuite 20ml de chloroforme et 20ml d'eau et on poursuit l'agitation magnétique. Après 1 h., 210mg de monoacétylcyclovirobuxéine B sont extraits par du chlorure de méthylène et purifié par cristallisation dans de l'acétone.

$$F\ 263^\circ \quad [\alpha]_D - 141^\circ \quad (CHCl_3, c = 1)$$

Analyse : $C_{28}H_{46}O_2N_2$

calc. %	C 75,97	H 10,47	N 6,33	O 7,23
tr. %	75,75	10,16	6,16	7,47

OXO-16 MONOACETYLCYCLOVIROBUXEINE B, 21

140mg de monoacétylcyclovirobuxine B sont traités par 50mg d'anhydride chromique dissous dans 10ml d'acide acétique à température ambiante. Après 1 h. d'agitation magnétique, on dilue par de l'eau, alcalinise par de l'ammoniaque et extrait par du chlorure de méthylène 150mg d'extrait brut qui donne, par cristallisation dans de l'acétone, 80mg d'oxo-16 mono-acétylcyclovirobuxéine B.

$$F\ 243^{\circ} \quad [\alpha]_D - 183^{\circ} \quad (CHCl_3, c = 1)$$

Analyse : $C_{28}H_{44}O_2N_2$

calc. %	C 76,31	H 10,07	N 6,36	O 7,26
tr. %	76,42	10,15	6,41	6,99

Spectre de masse : $M+ 440$; $m/e\ 71$; $m/e\ 84$ (8,5%) ; $m/e\ 58$ pic de base.

λ $\Delta \varepsilon$

Dichroïsme circulaire :

304	- 3,180
313	- 3,081

Spectre I.R. : bande cétone à 1750 ; bande amide à $1660cm^{-1}$.

Spectre de R. M. N. : système AB du CH_2 cyclopropanique ($J = 5cps$) à $- 0,30$ ppm, l'autre sortie n'est pas visible ; singulets de 4 méthyles tertiaires à 0,78, 0,83, 1,03 et 1,21ppm ; doublet du méthyle secondaire ($J = 6cps$) à 1,13ppm ; singulet de $COCH_3$ à 2,01ppm ; singulet du $N(CH_3)_2$ à 2,25ppm ; singulet du NCH_3COCH_3 à 2,83ppm ; singulet du proton en 17 à 2,70ppm ; multiplet des deux protons éthyléniques centré à 5,50ppm.

CYCLOMALAYANINE B, 24, O-16 COUMARYL CYCLOVIROBUXEINE B

La cyclomalayanine a été retirée des fractions d'élution par le benzène de la première chromatographie des bases B de l'extraction des feuilles du Buxus malayana.

$$F\ 170^{\circ} \text{ cristallisé dans l'acétate d'éthyle} \\ [\alpha]_D - 61^{\circ} \quad (CHCl_3, c = 1)$$

Spectre U. V. (éthanol) : max 257nm ; ϵ 13.000 ; 227, ϵ 12.000 ; 330, ϵ 18.000 ; 410, ϵ 23.000.

Spectre I.R. (CCl_4) : ester aromatique à 1710, 1150, 1160 cm^{-1} ; benzéniques à 1640, 1600 et 830 cm^{-1} .

Spectre de R. M. N. : cyclopropane (AB, $J = 5\text{cps}$) à - 0,18 et 0,73ppm ; 4 C- CH_3 , singulets à 0,78, 1,00, 2 x 1,03ppm ; CHCH_3 , doublet ($J = 6\text{cps}$) à 1,20ppm ; 1 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, singulet à 2,28ppm ; 1 NCH_3 , singulet à 2,45ppm ; 1 CHOR , vers 5,5ppm, multiplet ; 2 protons éthyléniques vers 5,5ppm ; système $\text{CH}=\text{CH}$ trans (AB, $J = 16\text{cps}$) à 6,13 et 7,55ppm ; système aromatique para disubstitué à 6,8 et 7,3ppm (AB, $J = 9\text{cps}$).

Spectre de masse : $M+ 560$; $M-15 = 545$; m/e 58 coupure en 20 ; m/e 58 71, 84 coupure en 3 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$ en 3)

Analyse : $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_3\text{N}_2$

calc. %	C 77,10	H 9,35	N 5,00	O 8,56
tr. %	76,92	9,10	4,81	9,00

Saponification de la cyclomalayanine

CYCLOVIROBUXEINE B, 19a

100mg de cyclomalayanine sont traités à ébullition à reflux dans 3ml de potasse méthanolique 2N. Après 2 h. d'ébullition, on distille à sec sous vide, reprend le résidu par de l'eau et extrait par du chlorure de méthylène 70mg de produit basique.

La phase aqueuse est acidifiée par de l'acide chlorhydrique et extraite par de l'éther. On obtient 29mg de produit acide.

Par recristallisation de la fraction basique dans de l'acétone, on obtient la cyclovirobuxéine B,

$$[\alpha]_D^{203} - 75^\circ \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $C_{27}H_{46}ON_2 \cdot H_2O$

calc. %	C 75,30	H 10,77	N 6,51
tr. %	75,26	10,74	7,05

Spectre de R.M.N. : CH_2 cyclopropanique, système AB ($J=5$ cps) à - 0,23 et + 0,72 ; singulet de C- CH_3 à 0,78 et 0,92, 0,95 et 1,05ppm ; un doublet ($J = 6$ cps) du méthyle en 21 à 1,08 ppm ; un singulet de $N(CH_3)_2$ à 2,26ppm ; 1 singulet de NCH_3 à 2,41ppm ; un multiplet centré à 4,10ppm correspondant à un proton en α d'une fonction alcool secondaire ; signal de 2 protons éthyléniques vers 5,55ppm.

Par recristallisation de l'acide dans de l'éther, on obtient l'acide coumarique ou trans-hydroxy cinnamique, F 216°.

Spectre de masse : pic $M+ 164$ ($C_9H_8O_3 = 164, 15$) ; M-17, M-28, M-44 (8%) ; m/e 44 (10%) ; 91 (4%), 65 (2%).

Spectre de R.M.N. de l'acétone : système AB ($J = 16$ cps) à 6,28 et 7,60ppm (-CH=CH- trans) système AB ($J = 8$ cps) à 7,51 et 6,85ppm (benzène p-disubstitué).

N-FORMYLCYCLOVIROBUXEINE B, 26

La N-formyl cyclovirobuxéine B est isolée par séparation à contre-courant à pH 5 (acide acétique ammoniacque) des fractions benzéniques de la chromatographie des bases B extraites des feuilles du Buxus malayana.

La N-formylcyclovirobuxéine B cristallise dans de l'acétone.

F 290° $[\alpha]_D - 157^\circ$ ($CHCl_3$, c = 1)

Analyse : $C_{28}H_{46}O_2N_2$

calc. %	C 75,97	H 10,47	O 7,69	N 6,57
tr. %	75,35	10,42	7,59	6,54

Spectre de masse : $M+ 442$ ($M-45$)⁺ ; m/e 58 ; m/e 71 ; m/e 84 correspondant à $N(CH_3)_2$ en 3 et m/e 86 correspondant au $NCHOCH_3$ en 20 et m/e 133.

Spectre de R.M.N. : Cyclopropane non visible ; 4 méthyles tertiaires à 0,8, 1,03, 1 et 1,06ppm ; le doublet du méthyle en 21 confondu avec les massifs des méthyles tertiaires vers 1,03ppm ; 1 singulet $N(CH_3)_2$ à 2,30ppm ; 2 rotamères de $N-\underset{\text{CHO}}{\underset{|}{CH_3}}$, singulets à 2,81 et 2,90ppm ; multiplet d'un proton en α d'une fonction alcool secondaire centré à 4ppm ; multiplet des protons éthyléniques centré à 5,68 ppm ; 2 singulets des rotamères de $N-\underline{CHO}$ à 8,05 et 8,11ppm.

CYCLOVIROBUXEINE B

60mg de N-formylcyclovirobuxéine B sont mis une heure au bain-marie bouillant en solution dans de la potasse méthanolique 2N (10ml). Après dilution par de l'eau, on extrait par du chlorure de méthylène. Les 40mg d'extract brut sont filtrés sur une colonne d'alumine et l'élution par du benzène donne 25mg de cyclovirobuxéine B 19a que l'on cristallise dans de l'acétone.

F 190° $[\alpha]_D - 77^\circ$ ($CHCl_3$, c = 1)

Analyse : $C_{27}H_{46}ON_2$

calc. %	C 75,30	H 10,77	N 6,51
tr. %	75,64	10,81	6,26

Synthèse partielle de la N-formylcyclovirobuxéine B, 26

150mg de cyclovirobuxéine B sont dissous dans 5ml d'acide formique. à 96% en présence de 1ml d'anhydride acétique. On laisse 1 h. en contact à 60°. La solution est ensuite diluée et alcalinisée par de l'ammoniaque. Après extraction par de l'éther, on obtient 145mg d'extract brut que l'on saponifie par 10ml de potasse méthanolique 2N. L'extraction de cette solution donne, par cristallisation dans de l'acétone, 100mg de N-formylcyclovirobuxéine.

F 288° $[\alpha]_D - 156^\circ 5$ ($CHCl_3$, c = 1)

Analyse : $C_{28}H_{46}O_2N_2$

calc. %	C 75,97	H 10,47	N 6,57
tr. %	75,35	10,44	6,14

CYCLOBUXOPHILLININE, 27a

Elle a été obtenue lors de la chromatographie du lot B des alcaloïdes totaux extraits des écorces du *Buxus malayana*, dans les fractions benzéniques et éthérées.

On recristallise dans l'acétone et purifie par sublimation :

$$F\ 167^{\circ} \quad [\alpha]_D - 69^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}$

calc. %	C 81,25	H 10,65	N 3,80	O 4,33
tr. %	80,98	10,62	3,61	4,33

Spectre U.V. (éthanol) : λ max. 244, ϵ 10970.

Spectre de R.M.N. : système AB cyclopropanique ($J = 5\text{cps}$) à 0,38 et 0,65ppm ; 4 CH_3 tertiaires, singulets à 0,70, 0,90, 0,90 et 1,33ppm ; doublet de méthyle 21 ($J = 8\text{cps}$) à 1,83 ; singulet du NHCH_3 à 2,43ppm ; quadruplet du proton éthylénique ($J = 7\text{cps}$) à 6,53ppm.

Spectre de masse : $M^+ 369$ ($M-15$) $^+$; m/e 44 ; m/e 57 ; m/e 70 ; m/e 135.

ACETYLCYCLOBUXOPHILLININE, 27b

50mg de cyclobuxophyllinine sont dissous dans 0,5ml de pyridine et 0,5ml d'anhydride acétique. La solution est portée 1 h. au bain-marie bouillant. On évapore sous vide à sec, ajoute de l'eau et extrait par Cl_2CH_2 après alcalinisation par de l'ammoniaque. Après lavage à l'eau, on obtient 55mg d'acétyl qui cristallise dans l'acétate d'éthyle.

Analyse : $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_2\text{N}$

calc. %	C 78,78	H 10,04	N 3,40	O 7,77
tr. %	79,06	10,02	3,57	7,76

$$F\ 217^{\circ} \text{ (sublimé)} \quad [\alpha]_D - 102^{\circ} \quad (\text{CHCl}_3, c = 0,7)$$

Spectre de R. M. N. : système AB du méthylène cyclopropanique ($J = 5\text{cps}$) à 0,36, 0,66 ; 4 CH_3 tertiaires à 0,86, 0,88, 0,95 et 0,95ppm ; CH_3 en 21, doublet ($J = 8\text{cps}$) à 1,81ppm ; NCOCH_3 , 2 rotamères à 2,10 et 2,13ppm ; NCH_3 , 2 rotamères à 2,90 et 2,81ppm et le quadruplet du proton éthylénique ($J = 7\text{cps}$) à 6,55ppm.

Synthèse partielle de la cyclobuxophyllinine, 28, 29

200mg de cyclovirobuxine D, dissous dans 5ml d'acide acétique, sont traités par 30mg d'anhydride chromique, à froid pendant 3 jours. Après extraction par du chlorure de méthylène en milieu alcalin (ammoniaque) les 170mg de produit bruts obtenus par évaporation sous vide de la phase organique sont traités par 10ml de potasse méthanolique 2N, 1 h. sur bain-marie bouillant. Le produit de la réaction est extrait par du chlorure de méthylène et évaporé sous pression réduite. On obtient ainsi 165mg d'un mélange de 2 isomères oxo-16 Δ_{17} cis et Δ_{17} trans, qui est ensuite purifié par chromatographie sur 3,9g d'alumine normale, le produit étant élué par un mélange hexane-benzène 1/1.

Une étude de ce produit montre qu'il répond bien à la formule $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}$, et le spectre de R. M. N. montre 2 quadruplets centrés à 6,61 et 4,51 ($J = 7\text{cps}$), caractéristiques des deux isomères.

Acétylation de la cyclobuxophyllinine de synthèse, 27b

50mg de produit sont traités 1 h. sur bain-marie bouillant par 1ml d'anhydride acétique et 1ml de pyridine. Après dilution à l'eau et alcalinisation par de l'ammoniaque, 45mg de mélange sont extraits par du chlorure de méthylène, 20mg d'acétyl cyclobuxophyllinine sont séparés par filtration sur 1200mg de silice "Labler" 4', dans les fractions benzène-éther 1/1.

$$F\ 213^\circ (\text{sublimé}) \left[\alpha \right]_D - 108^\circ \quad (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

Analyse : $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_2\text{N}$

calc. %	C 78,78	H 10,04	N 3,40	O 7,77
tr. %	78,95	10,01	3,38	7,65

ESTER VANILLIQUE DE LA CYCLOVIROBUXINE D, 30

Il a été séparé des bases fortes extraites de l'extraction des écorces du *Buxus malayana*, par chromatographie sur alumine d'activité IV. Il est obtenu des fractions d'élution par de l'éther, et cristallisé dans l'acétate d'éthyle.

$$F\ 210^{\circ} \quad [\alpha]_D \pm 2$$

Analyse : $C_{34}H_{52}O_4N_2$

calc. %	C 73,87	H 9,48	N 5,07	O 11,58
tr. %	73,66	9,57	4,95	11,82

Spectre de .R.M.N. : système AB cyclopropanique ($J = 5\text{cps}$) à 0,33 et 0,58ppm ; 4 CH_3 tertiaires, singulets à 0,76, 0,95, 1,10 et 1,16ppm ; doublet du méthyle secondaire ($J = 6\text{cps}$) à 1,13ppm ; 2 singulets des $NHCH_3$ à 2,36 et 2,63ppm ; méthoxy, singulet à 3,80ppm ; multiplet du $\underline{CH}OCCr$ à 5,26 ppm ; système AB des protons aromatiques ($J = 8\text{cps}$) à 6,72 et 6,45ppm ; 1 $\underline{H}$ aromatique singulet à 7,23ppm.

Spectre de masse : $M+ 552$.

Saponification de l'ester vanillique de la cyclovirobuxine D

200mg d'ester vanillique sont traités par 50mg de potasse méthanolique 2N, 1 h. sur bain-marie bouillant. La solution est extraite par du chlorure de méthylène, évaporée sous vide et, après chromatographie sur 5g d'alumine d'activité V, 120mg de cyclovirobuxine D sont séparés des fractions d'élution par du benzène.

La phase aqueuse est acidifiée par de l'acide chlorhydrique et extraite par de l'éther. On obtient ainsi 35mg d'acide vanillique, 31.

$$F\ 109^{\circ} \text{ (sublimé)}$$

Analyse : $C_8H_8O_4$

calc. %	C 57,14	H 4,80	O 38,06
tr. %	57,38	4,95	37,73

Spectre de R. M. N. (CF_3COOH) : 1 signal à 3,2ppm de OCH_3 , 1 couplage de 2 H en ortho dans un système aromatique à 6,58 et 7,60 ppm ; 1 proton, singulet à 7,23ppm.

Spectre de masse : $M+ 168$.

CONCLUSION

L'extraction des feuilles et écorces de Buxus malayana a fourni un mélange de 10 alcaloïdes appartenant tous au type cyclo-9 β , 19 triméthyl-4, 4', 14 α prégnane-5 α .

4 de ces alcaloïdes étaient déjà connus et leur identification a été faite par comparaison avec des échantillons de référence.

Les structures des nouveaux alcaloïdes ont été déterminées par spectrométrie de masse, de R. M. N. et confirmées par corrélations chimiques.

La présence d'ester coumarique et vanillique, ainsi que celle d'un dérivé N-formylé pouvant représenter une étape biogénétique, caractérise cette plante.

x

x

x

BIBLIOGRAPHIE

- 1 K.S. BROWN et S.M. KUPCHAN, J.amer.chem.Soc., 1962, 84, 4590.
- 2 Th. MATHOU, Recherche sur la famille des Buxacées, Thèse Doct. ès-Sciences, Toulouse, 1940.
- 3 S. HATUSIMA, J. Dept. Agric. Kyusyn im.Univ., 1942, 6, 261.
- 4 H. ROSTOCK et E. SEEBECK, Helv.chim.Acta, 1958, 41, 11.
- 5 E. SCHLITTLER, K. HEUSLER et W. FRIEDRICH, Helv.chim. Acta, 1949, 32, 2209.
- 6 J.P. ALAME et D. ARIGONI, Chima, 1964, 18, 185.
- 7 H. RUSCHIG, W. FRITSCH, J. SCHMIDT, Thomas W. HAEDE, Chem. Ber., 1955, 88, 883.
- 8 F. KHUONG-HUU-LAINE, D. HERLEM, E. STANISLAS, R. G. R. GOUTAREL, Bull.Soc.chim., 1965, p. 657.
- 9 W. ESCHWEILER, Ber., 1905, 38, 880.
- 10 Ad. CAVE, C. KAN-FAN, P. POTIER, J. LE MEN et M.-M. JANOT, Tetrahedron, 1967, 23, 469.
- 11 K.S. BROWN, S.M. KUPCHAN, Tetrahedron Letters, 1964, 39, 2895.
- 12 D. HERLEM-GAULIER, Thèse de Doctorat, Paris 1967.
- 13 K.S. BROWN, S.M. KUPCHAN, J.amer.chem.Soc., 1962, 86, 4430.
- 14 J.P. CALAME, Thèse Doctorat, Zürich, 1965.
- 15 M. DOEPKE, H. MUELLER, Pharmazie, 1968, 23, 37.
- 16 T. NAKANO, S. TERAQ, Y. SOCHI, Tetrahedron Letters, 1964, 18, 1035 à 1045.
- 17 T. NAKANO, S. TERAQ, Y. SAEKI, J.chem.Soc., 1962, 84, 1412-21.
- 18 K.S. BROWN et S.M. KUPCHAN, J.amer.chem.Soc., 1962, 84, 4590-92.
- 19 R.L. SCHRINER, C.N. WOLF, R.A.B. JOHN, Org. Synthèse, Vol. IV.

